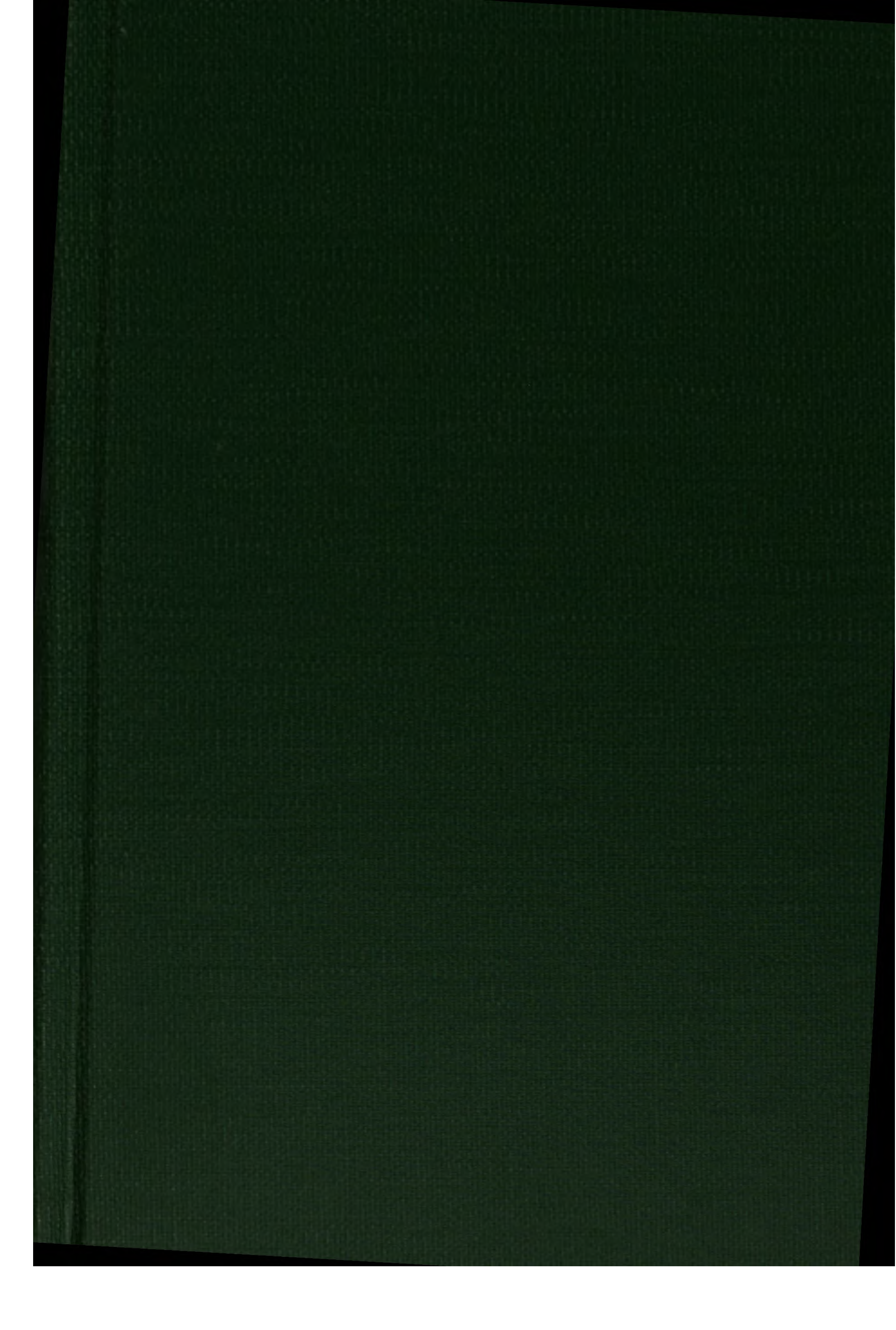
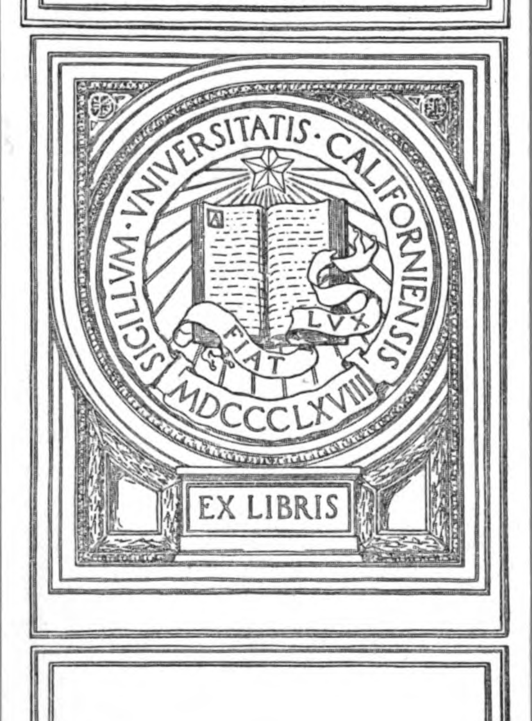
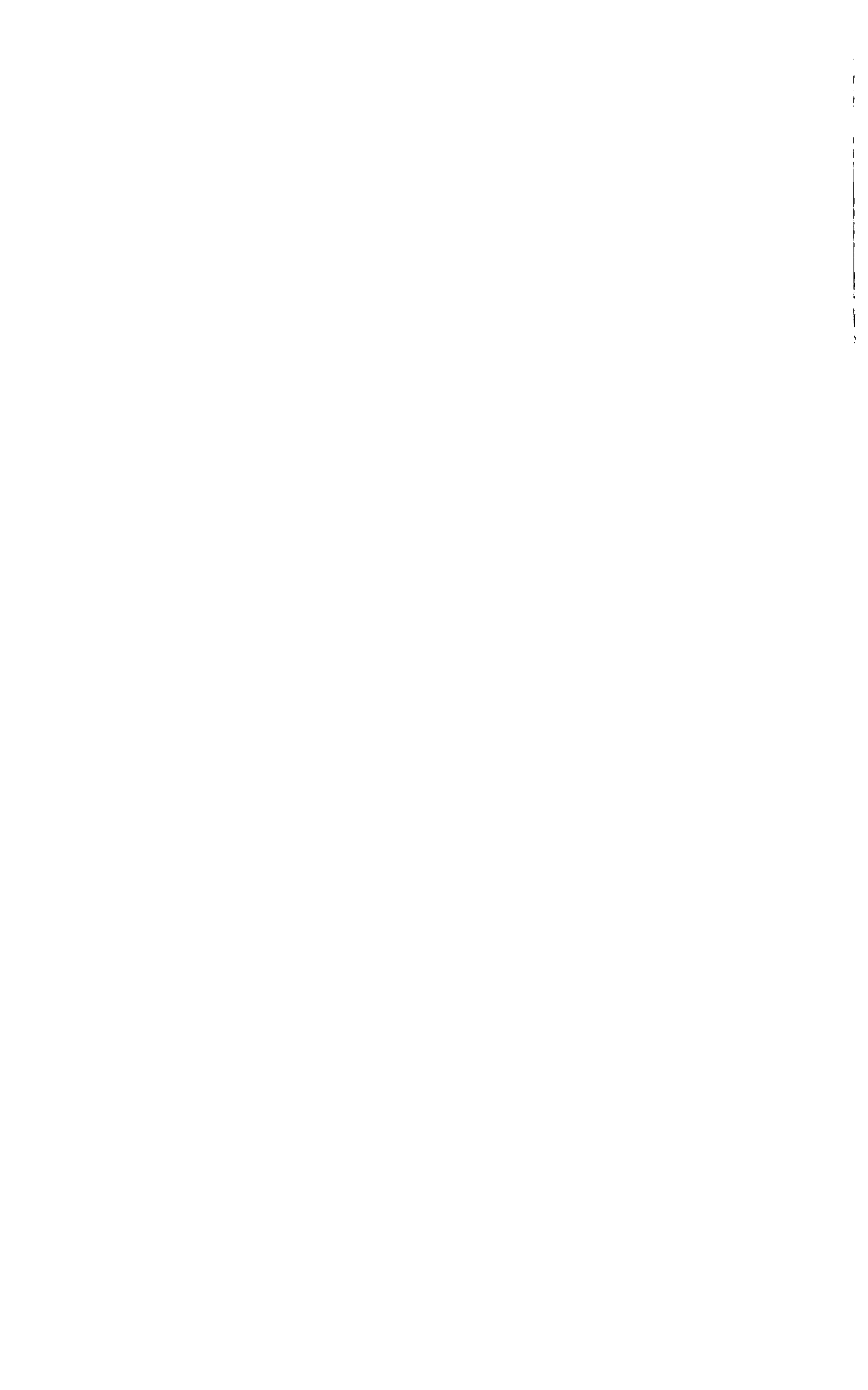
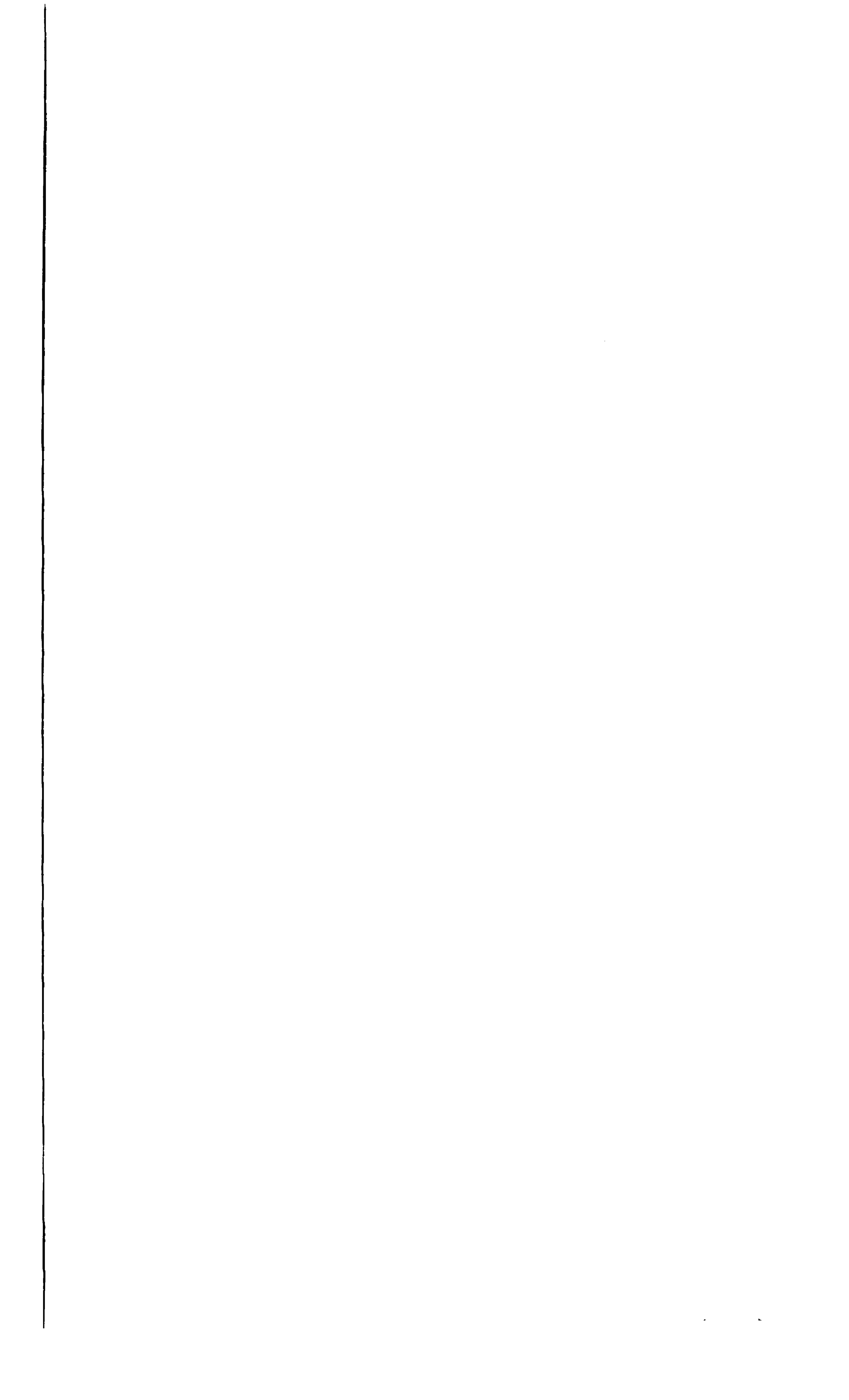



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS







Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertsechsundsechzigster Band



Berlin
Verlag von Julius Springer
1925

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig

Inhalt.

Seite

Alsterberg, Gustaf. Über Jodidanalyse und neue Einstellungsmethoden für Permanganat- und Hyposulfitlösungen 1

Rywosch, S. Untersuchungen über die Quellungsvorgänge bei hygroskopischen Bewegungen 24

Leites, S. Über die Beziehungen zwischen dem vegetativen Nervensystem und den Elektrolyten K, Ca des Serums 47

Aristowsky, W. M. Übergang der Phosphor und Calcium enthaltenden unlöslichen Verbindungen in lösliche und Absorption derselben im Magendarm-Apparat 55

Hilpert, Siegfried. Über bakterizide Eigenschaften in der Chinongruppe 71

— — Über eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln: Chlorierte hochmolekulare Sulfosäuren 89

Farkas, G. und **H. Tangl.** Die Wirkung des Cholins auf Kaulquappen 95

Port, Jaan. Über die Wirkung der Neutralsalze auf das Durchdringen der H˙- und OH′-Ionen durch das Pflanzenplasma. I. 105

Helzer, J. Untersuchungen über die Regulierung der Wasserstoffionenkonzentration im Organismus durch die Darmwand 116

Schaudt, Gustav. Die Wasserstoffionenkonzentration der menschlichen Fäzes 136

Glimm, E. und **F. Wadehn.** Beitrag zur Kenntnis des Placentahormons. Vorläufige Mitteilung. 155

Wallerstein, Albert. Untersuchungen über die Verdaulichkeit von Lichenin 157

Demuth, Fritz. Über Phosphatstoffwechsel. II. 162

Chrząszcz, T. und **C. Goralówna.** Milchdiastase und ihre Eigenschaften. 172

Freundlich, H. und **W. Beck.** Die Sensibilisierung durch Albumine und Pseudoglobuline aus normalem und Immunseren 190

Meyer, Kurt. Versuche über die anaphylaktogene Wirkung kristalloider Substanzen. II. Mitteilung: Über Ursolanaphylaxie 202

Kaufmann, E. Zur Mikroblutzuckerbestimmung nach Hagedorn und Jensen 207

Schumacher, Josef. Über die Bedeutung des Calciums bei der Salvarsanwirkung 210

— — Über das Verhalten einiger basischer Farbstoffe zu Lipoiden . . 214

Liepatoff, S. Zur Kinetik der Quellung und Entquellung der Gele . . 220

Hägglund, Erik und **Ann-Marie Augustson.** Über die Abhängigkeit der alkoholischen Gärung von der Wasserstoffionenkonzentration. II. 234

Rona, P. und **G. Melli.** Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. III. 242

Berichtigung 250

Bickel, A. Weitere Untersuchungen über den Stoffwechsel bei der Avitaminose 251

Seite

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 85: Der Einfluß der inneren Sekretion auf das phagocytäre Vermögen der Leucocyten, geprüft mit der Methode von Fenn. Von Yukujiro Abe . . 295

— — Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 86: Fortgesetzte Prüfung der chemischen Regulation des Herzschlages durch die Leber. Willy Richardet 317

— — Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 87: Fortgesetzte Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Schilddrüse, Thymus, Milz und Knochenmark. Von Hideo Nakao 337

— — Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 88: Fortgesetzte Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Thymus, Milz und Knochenmark. Von Hideo Nakao 350

— — Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 89: Fortgesetzte Untersuchungen über den Einfluß der Nierennerven auf die Zusammensetzung des Harns. Von W. Kichikawa 362

Warburg, Otto. Versuche über die Assimilation der Kohlensäure . . . 386

Lebedew, A. Bemerkung zur Arbeit von Kluyver, Donker und Visser 't Hooft: „Über die Bildung von Acetylmethylcarbinol und 2, 3-Butylenglykol“ 407

Iwatsuru, Ryuzo. Über Polysaccharid-spaltung durch Hefe 409

Arnd, O. Über den Einfluß von Acetonitril auf die elektroendosmotische Flüssigkeitsbewegung 414

Hafner, E. A. Über die spezifische Rotationsdispersion der Serumeiweißfraktionen 424

Collaud, A. Über den Einfluß der Erythrocytenladungen auf deren Sedimentierungsgeschwindigkeit 431

Neuberg, Carl und **Günther Gorr.** Überführung des Methylglyoxals in Brenztraubensäure 442

— — — — Über die gekreuzte Dismutation zwischen Aldehyd und Keton 444

Neuberg, Carl und **Carl Oppenheimer.** Zur Nomenklatur der Gärungsfermente und Oxydasen 450

Neuberg, Carl und **Fritz Windisch.** Über die Essiggärung und die chemischen Leistungen der Essigbakterien 454

Neuberg, Carl und **Günther Gorr.** Über den Mechanismus der Milchsäurebildung bei Bakterien. II. 482

Neuberg, C. und **M. Kobel.** Vergleichende Versuche über die zellfreie Vergärung von Hexose-di-phosphorsäure, Glucose, Fructose, Saccharose sowie Invertzucker 488

Autorenverzeichnis 497

Über Jodidanalyse und neue Einstellungsmethoden für Permanganat- und Hyposulfitlösungen.

Von

Gustaf Alsterberg.

(Aus dem zoologischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 18. September 1925.)

Einleitung.

Bei meiner Arbeit über die Analyse des elementaren Sauerstoffs kam ich auch mit den jodometrischen Methoden in nahen Kontakt, da die wichtigsten Analysierungsmethoden für in Wasser gelösten Sauerstoff wesentlich in angewandter Jodometrie bestehen[1]). Doch fand ich, daß die Titerstellung der für diese Form von Jodometrie notwendigen Hyposulfitlösung ein Problem war, das eines eigenen Studiums bedurfte.

So kam ich dazu, selbständig neue jodidanalytische Methoden auszuprobieren. Erst als meine Untersuchungen fertig vorlagen, erfuhr ich, daß in der letzten Zeit (größtenteils innerhalb des letzten Jahres) die diesen Methoden zugrunde liegenden Reaktionen ein Gegenstand sehr gründlicher und interessanter Abhandlungen gewesen waren. *Lang* (1922, 1923, 1924, 1925a, 1925b, 1925c) stellte sich aber ganz andere Aufgaben, besonders die Ausarbeitung einer exakten Halogenid- und Cyanidanalyse. Außerdem bediente sich *Lang* meist des Jodats oder Nitrits als Oxydierungsmittel, während ich von der Permanganatoxydation ausging. Infolgedessen behielt ich trotz der *Lang*schen Veröffentlichungen die Ergebnisse meiner Versuche über die neuen jodid-

---

[1]) Ich will hier vorausschicken, daß ich in allernächster Zukunft zwei O_2-analytische Arbeiten publizieren werde, wovon die eine die von *Winkler* (1888) ausprobierte Methode behandeln und die zweite eine neue Methode beschreiben wird. Diese geht, wie das von *Thresh* (1890) ausgearbeitete Verfahren, von der Fähigkeit der salpetrigen Säure, bei der Umsetzung zwischen elementarem Sauerstoff und Jodwasserstoff als Katalysator zu funktionieren, aus, hat aber sonst eine ganz andere Behandlungstechnik, die diese Methode noch einfacher macht als die *Winkler*sche.

analytischen Methoden in meiner Abhandlung bei, zumal da diese von mir erhobenen Befunde neue und für die analytische Praxis gar nicht unwichtige Einzelheiten repräsentieren. So ist meines Wissens die von mir vorgeschlagene Anwendung von Jodkalium als oxydimetrische und jodometrische Urtitersubstanz eine vollkommen neue Behandlung dieses Problems.

I. Oxydimetrische Bestimmung der Jodide.

Eine Methode, die staunenswert einfach ist, die aber erst in allerletzter Zeit angewendet wurde, ist die von *Mc Culloch* (l. c.) ausgearbeitete. Die Methode besteht wesentlich in einer Permanganatoxydation der sauren Probe nach Zusatz von Cyankalium. Die erste Phase dieser Reaktion besteht darin, daß der Jodwasserstoff unter Bildung von freiem Jod oxydiert wird.

$$2KMnO_4 + 10HJ + 3H_2SO_4 = 2MnSO_4 + K_2SO_4 + 5H_2O + 5J_2 \quad (1)$$

Beim Vorhandensein eines löslichen Cyanids reagiert das so ausgeschiedene Jod in saurer Lösung mit Cyanwasserstoff, wobei sich Jodcyan und Jodwasserstoff bilden.

$$J_2 + HCN \rightleftarrows JCN + HJ. \quad (2)$$

Doch geht, auch wenn Cyanwasserstoff im Überschuß existiert, nicht die ganze Menge vorhandenen Jods in Jodcyan und Jodwasserstoff über; wir müssen nämlich daran denken, daß Jod gerade in Jodwasserstoff eine große Löslichkeit besitzt und daß deshalb sehr komplizierte Gleichgewichtsverhältnisse entstehen. Doch verschiebt sich der Reaktionsverlauf während der Titration immer mehr zur Bildung von Jodcyan, je mehr der vorhandene Jodwasserstoff, soweit er von Anfang an in Form zugeführten Jodids bestand oder neu regeneriert worden war, oxydiert wurde, so daß schließlich das ganze Jod der Lösung in Jodcyan übergeht. Den so beendigten Reaktionsverlauf will ich durch nachstehende Formel veranschaulichen:

$$2KMnO_4 + 5HJ + 5HCN + 3H_2SO_4 = 2MnSO_4 + 5H_2O + 5JCN \quad (3)$$

Während der Titration lassen sich auch die verschiedenen Phasen des Verlaufs sehr gut verfolgen. Um mit dem Permanganatzusatz zu beginnen: die Lösung erhält eine braune Farbe, die während des fortwährenden Permanganatzusatzes an Stärke zunimmt; jetzt befindet sich der größte Teil des frei gewordenen Jods in komplexer Vereinigung mit dem gleichzeitig vorhandenen Jodwasserstoff. Dessen zunehmende Oxydation wird bei weiterem Permanganatzusatz dadurch markiert, daß die Probe nach und nach lichter und endlich ganz farblos wird, worauf binnen kürzester Zeit der Umschlag erfolgt, der dadurch gekennzeichnet wird, daß sich die Probe bei Permanganatüberschuß rosa

färbt. Wenn man mit 0,1 n oder 0,05 n Permanganatlösung arbeitet, ist der Umschlag ebenso deutlich und macht sich auf gleiche Art bemerkbar, wie bei Titration von Oxalsäure mit Permanganat. Bei der Jodidbestimmung braucht die Probe nicht erwärmt zu werden, eine Erwärmung würde vielleicht direkt schädlich wirken.

Hiermit will ich in Tabelle I einige analytische Belege für die Methode mitteilen.

Tabelle I.

Zusatz von KJ mg	Durch Permanganattitration analysiert mg	Cyankaliumzusatz ccm	Bemerkungen
44,4	44,6	1	
141,8	141,7	1	Mittelwert von sechs in Tab. II angeführten Analysen
165,7	165,9	1	
192,8	192,6	2	
286,0	285,8	2	

Permanganattitration von bestimmten Quantitäten Jodkalium, das nach dem Trocknen bei + 170° C und Abkühlen im Exsikkator über Schwefelsäure gewogen wurde; oder es wurden bestimmte Quantitäten (19,96 ccm) einer 0,1 n Jodkaliumlösung (= 165,7 mg KJ) mit der Pipette genommen. Zur Probe fügte ich außer Jodkalium 10 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 : 10) und verschiedene Quantitäten einer 10proz. Cyankaliumlösung hinzu. Die Probe wurde mit Aqua dest. zu einer Lösung von etwa 100 ccm verdünnt.

Wenn es sich aber um die Bestimmung geringerer Jodquantitäten handelt, wird das Resultat mit Rücksicht darauf, daß die Titerlösung relativ konzentriert ist, weniger genau; der überschüssige Tropfen, dessen man zur Kennzeichnung des Umschlages bedarf, bedeutet hier einen großen Fehler. Ferner bedeutet ein auch nur unbedeutender Ablesungsfehler jetzt viel mehr. Es wäre von großem Vorteil gewesen, wenn man sich einer 0,01 n Lösung hätte bedienen können, aber bei meiner Arbeit mit solchen Lösungen fand ich, daß der Umschlag sehr undeutlich wird. Überhaupt verwendet man in der analytischen Praxis ziemlich selten Permanganatlösungen, deren Stärke geringer als 0,05 n ist.

Ich suchte diesen mißlichen Umstand dadurch zu überwinden, daß ich Stärkelösung als Indikator hinzufügte, und wirklich trat bei Titration mit etwa 0,01 n Permanganatlösung die Stärkeverfärbung bedeutend früher auf als der Permanganatfarbenumschlag. Doch trat die Stärkeverfärbung sehr unregelmäßig auf, was auf der Art des Zusatzes von Titerflüssigkeit beruht.

In diesem Zusammenhang mag ein Gegenstand erwähnt werden, der noch umstritten ist (s. z. B. *Abegg* 4 (2), 479, 1913). Einige Verfasser

behaupten, das Jodcyan als solches färbe die Stärke blau, während andere dies verneinen. Tatsächlich verhält sich die Sache folgendermaßen: Das Jodcyan beeinflußt die Stärke nicht, aber beim geringsten Zusatz von reduzierenden Stoffen, vor allem von Jodiden, die die Bildung von freiem Jod verursachen, tritt natürlich eine Blaufärbung der Stärke auf, sofern die Acidität ausreicht.

Umstände, welche diese Analysierungsmethode stören oder die möglicherweise störend wirken können, will ich später berühren.

II. Jodometrische Bestimmung der Jodide.

Damit gehe ich auf die Behandlung einer meines Wissens ganz neuen Methode über, die bisher nur von *Lang* verwendet wurde. Sie beruht wesentlich auf der vorhergehenden Methode. Ihr Prinzip besteht in einer Rücktitration des durch Permanganatoxydation gebildeten Jodcyans mittels Hyposulfit. Nach *Meineke* (1893) reagiert diese Substanz in saurer Lösung genau wie freies Jod auf Hyposulfit und läßt sich wie freies Jod ohne weiteres titrieren. Dabei entspricht ein Molekül Jodcyan zwei Molekülen Hyposulfit.

$$JCN + 2\,Na_2S_2O_3 = NaJ + NaCN + Na_2S_4O_2. \qquad (1)$$

Doch muß man daran denken, daß der wesentlichste Teil des Titrationsverlaufs in einer Umsetzung zwischen Jodcyan und dem während der Titration gebildeten Jodwasserstoff nach der bereits angeführten Formel

$$JCN + HJ = HCN + J_2 \qquad (2)$$

besteht, und daß erst nachher der gewöhnliche Umsetzungsverlauf zwischen Jod und Hyposulfit nach der bekannten Formel

$$J_2 + 2\,Na_2S_2O_3 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6 \qquad (3)$$

stattfindet.

Im allgemeinen ist es daher überflüssig, zur Probe vor der Titration Jodkalium hinzuzufügen. Daß in beiden Fällen ein vollkommen gleiches Resultat erzielt wird, geht aus den Ziffern der Tabelle II hervor, die ich wiedergebe, da sie Tatsachen veranschaulichen, die für das Ziel dieser Untersuchung bedeutungsvoll sind.

Tabelle II.

	Permanganatlösung ccm	Hyposulfitlösung ccm	Zusatz von KJ g		Permanganatlösung ccm	Hyposulfitlösung ccm	Zusatz von KJ g
A	19,44	19,32	0,4	B	19,44	19,31	0
	19,44	19,32	0,4		19,45	19,33	0
	19,45	19,33	0,4		19,44	19,32	0

Als Ausgangsmaterial der Analysen der Serie wurden 19,96 ccm 0,1n KJ-Lösung (= 165,7 mg KJ) verwendet, die mit 1 ccm 10proz. Cyankaliumlösung und 10 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 : 10) versetzt wurde. Ich verdünnte die Lösung mit Aqua dest. zu etwa 100 ccm und oxydierte sie mit 0,1028 n Permanganatlösung bis zum Erfolgen des Umschlages. Die Proben der Teilserie A wurden darauf vor der zweiten Titration durch 0,1034 n Hyposulfit mit KJ versetzt, während die Proben der Teilserie B ohne jeden Zusatz titriert wurden.

Das Resultat bestätigt also die Schlüsse *Meinekes*, da die Ziffern der beiden Teilserien nahezu gleich sind. Doch will ich hinzufügen, daß der Umschlag bei der Analyse geringer Jodidmengen undeutlich ist, besonders wenn die Cyanidmenge verhältnismäßig groß ist, denn jetzt ist das Gleichgewichtsverhältnis zugunsten der Komponenten JCN und HJ verschoben. Wie schon *Lang* (l. c.) gefunden hat, verschärft ein Zusatz von Jodkalium den Umschlag beträchtlich, denn damit wird die Reaktion zugunsten des Komponentenpaares J_2 und HCN verschoben.

Außerdem galt es, eine in mehrfacher Hinsicht wichtige Frage zu untersuchen, nämlich die Bedeutung eines eventuellen Permanganatüberschusses in der Lösung, die nach der Hyposulfitmethode analysiert werden sollte. Es war teils zu untersuchen, inwieweit ein solcher Überschuß oxydierend auf das Jodcyan wirken konnte, so daß sich durch das darin gebundene Jod z. B. Jodsäure entwickelte. Ferner mußte untersucht werden, auf welche Weise man diesen Überschuß reduzieren konnte, ohne zugleich das entstandene Jodcyan zu reduzieren. Als die geeignetste und nächstliegendste Substanz, die dabei zur Verwendung gelangen konnte, erwies sich Oxalsäure. Ich will einige Werte angeben, da sie in mehrfacher Hinsicht von allgemeinem Interesse sind. Nach dem zu urteilen, was ich in noch nicht veröffentlichten Untersuchungsresultaten fand, kann bei der Permanganatoxydation ein Phänomen auftreten, das ich als eine *Aktivierung des im Wasser gelösten elementaren Sauerstoffs erklären* möchte, ein Umstand, der manchmal — analytisch gesehen — sehr störend wirken kann. Ich konnte nämlich durch meiner Ansicht nach ganz sichere Experimente direkt analytisch konstatieren, daß der Sauerstoff nach einer vorhergehenden Reduktion von vorhandenem Permanganat mittels überschüssiger Oxalsäure zu nicht geringem Teil verschwindet. Und tatsächlich ließ sich dieselbe Erscheinung, wiewohl von einem anderen Gesichtspunkt aus, auch hier konstatieren. Gleichzeitig ergab sich jedoch, daß sich derartige störende Einwirkungen durch die Anwendung verschiedener Vorsichtsmaßregeln leicht eliminieren ließen. Zur Demonstration dieser verschiedenen Tatsachen will ich experimentelle Belege mitteilen.

Tabelle III.

	Permanganatzusatz ccm	Permanganatüberschuß ccm	Hyposulfitzusatz ccm	Hyposulfitüberschuß ccm	Zusatzmethode
A	20,93	1,51	19,34	+ 0,03	allmählich
	20,90	1,48	19,34	+ 0,03	"
	20,71	1,28	19,31	± 0,00	"
B	20,15	0,73	19,90	+ 0,59	auf einmal
	20,47	1,05	19,67	+ 0,36	" "
	20,53	1,11	19,59	+ 0,28	" "

Als Ausgangsmaterial wurden bei den Proben 19,96 ccm 0,1 n Jodkaliumlösung verwendet, die mit 1 ccm 10proz. Cyankaliumlösung und 10 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 : 10) versetzt wurde, worauf die Lösung zu etwa 100 ccm verdünnt wurde. Permanganatlösung (0,1028 n) wurde im Überschuß hinzugefügt, der vor der Hyposulfittitration durch einen Zusatz von 2 ccm 0,1 n Oxalatlösung reduziert wurde, die die Lösung innerhalb weniger Sekunden klärte. In der Teilserie A fügte ich allmählich Permanganatlösung hinzu, während der Zusatz in der Teilserie B auf einmal erfolgte, sobald die Flüssigkeit die Bürette verlassen konnte. Die Größe des Permanganatüberschusses ließ sich dadurch berechnen, daß man 19,42 ccm, die auf Grund des Titers der zugegebenen Jodkaliummenge entsprachen, vom Zusatz subtrahierte. Der Mehrverbrauch an Hyposulfit (0,1034 n) wurde berechnet, indem man 19,31 ccm, die dem vorhandenen Jodkalium entsprachen, vom Zusatz subtrahierte.

Die angeführten Ziffern stellen die Sachlage genügend klar dar. An und für sich bedeuten wenigstens nicht allzu große Überschüsse wenig, soweit nachher eine Reduktion mit Oxalsäure vorgenommen wird, aber dieser Überschuß muß als Permanganat, nicht als Mangansuperoxyd vorhanden sein. Letzteres tritt nämlich beim momentanen Beimischen ein, während die Zusätze bei der sukzessiven Beimischung jedesmal zu Mangansalz reduziert werden, bis der ganze Jodwasserstoff oder das ganze freie Jod verschwunden ist, worauf der Überschuß die Form von unzerteiltem Permanganat annimmt. Ist der Permanganatüberschuß in Form von Superoxyd vorhanden, so treten sofort sehr starke Säureaktivierungen auf. Tatsächlich hätte man vielleicht glauben können, daß die unregelmäßigen Ziffern in diesem Falle vielmehr anzeigen, daß die Oxalatreduktion unvollständig war, was sich denken ließe, da Braunstein ein schwächeres Oxydationsmittel als Permanganat ist. Gegen diese Annahme spricht nicht nur, daß die Lösung bei Oxalatbeimischung ganz klar blieb, sondern vor allem, daß — was mir zu zeigen gelungen ist — der im Wasser gelöste elementare Sauerstoff damit verschwindet. Dieser aktivierte Sauerstoff wirkt eine recht lange Zeit hindurch, ja mehrere Stunden nach einer solchen Reduktion, was sich leicht zeigen läßt. Wenn man dem Wasser, in das man vorher eine größere Menge Permanganat, Schwefelsäure und überschüssige Oxal-

säure gegeben hat, Jodkalium und Stärkelösung beimischt, so entsteht infolge des ausgeschiedenen Jods Blaufärbung. Das tritt auch dann ein, wenn man das Experiment mehrere Stunden nach der Oxalsäurereduktion ausführt. Doch ist vor allzu großen Überschüssen, auch wenn sie die Form unzerteilten Permanganats annehmen, zu warnen. Sie lassen sich nämlich schwer ohne Braunsteinbildung wegreduzieren, und damit ist wieder die Entstehung aktivierten Sauerstoffs gegeben. Eine geringe Spur davon existiert allerdings auch in den Proben der Parallelserie A und in anderen auf analoge Weise analysierten Proben, denn in einer Parallelserie (angeführt in Tabelle II) ohne größeren Permanganatüberschuß als den zur Erzielung des Umschlages erforderlichen, näherten sich die Werte durchschnittlich mehr dem berechneten Wert (nur etwa 0,01 ccm höher).

Diese sauerstoffanalytischen Untersuchungen, bei welchen ich diese Entstehung von aktiviertem Sauerstoff konstatieren konnte, werde ich in einer anderen Abhandlung, zugleich mit einer Darstellung der Kontrollexperimente bzw. einer von *Rideal* und *Stewart* (1901) ausgearbeiteten Methode, darlegen. Man kann sich übrigens fragen, ob diese Störung den Mangansuperoxyden oder der Oxalsäure eigentümlich ist: ich möchte mich entschieden für die erste Alternative aussprechen, denn ich fand die gleichen Unregelmäßigkeiten, wenn ich Nitrit als Reduktionsmittel verwendete (die Reduktion mit einer darauffolgenden Azidbehandlung kombiniert, um den Nitritüberschuß zu zerstören, über diese Reaktion siehe *Alsterberg*, 1925), und ebenso konnte ich sie bemerken, wenn ich Rhodankalium als Reduktionsmittel benutzte. Die Entstehung des aktivierten Sauerstoffs ist, unabhängig von der Beschaffenheit des Reduktionsmittels, irgendwie mit der Superoxydbildung verbunden. Ich habe das Verhältnis in seinem allgemeinen Umfang nicht genauer analysiert, aber es läßt sich vermuten, daß es bei verschiedenen analytischen Verfahren, z. B. bei den Methoden *Volhards* (1879) bei der Einstellung von Permanganatlösungen mittels Jod, ferner bei den verschiedenen Bestimmungsmethoden für organische Substanzen mittels Permanganatlösung möglicherweise nicht ohne Einfluß ist. Bei einigen wenigen Experimenten, wo ich Oxalsäure auf verschiedene Weise — entweder durch momentanen Zusatz beinahe der ganzen nötigen Permanganatmenge sowie nachher tropfenweise bis zum Umschlag oder durch eine durchaus allmähliche Beimischung bis zum Umschlag — titrierte, konnte ich allerdings keine Störung finden. Ebensowenig konnte ich bei Analysen nach *Volhards* Methode einen Unterschied im Resultat bemerken, wenn die Permanganatlösung dem mit Säure versetzten Jodkalium tropfenweise zugeführt wurde oder wenn dieses in konzentrierter Form der Permanganatlösung beigemischt wird. Doch ist es möglich, daß auch bei diesen

analytischen Verfahren aktivierter Sauerstoff auftreten kann, z. B. wenn die Lösung nicht ausreichend sauer ist, ein Umstand, den ich nicht untersuchte.

Mit Rücksicht auf die jodometrische Analyse der Jodide läßt sich indessen deutlich erkennen, daß ein mäßiger Permanganatüberschuß in Form unzerteilten Permanganats für die folgende jodometrische Bestimmung ohne größere Bedeutung ist. Es ist ebenso klar, daß sich aus dem im Jodcyan gebundenen Jod keine Jodsäure bilden kann. Das stimmt mit der Ansicht *v. Meyers* (1887) überein; er weist darauf hin, daß das Jodcyan verschiedenen Oxydationsmitteln gegenüber sehr resistent ist, und zählt eine Reihe von solchen auf, erwähnt aber Permanganat nicht. Diesen Umstand untersuchte *Lang* (1925), der zum gleichen Resultat wie ich gelangte; erst bei hohen Permanganatkonzentrationen kommt eine derartige Oxydation zustande.

Damit will ich verschiedene analytische Belege für die Methode anführen, die in den Tabellen IV und V zusammengestellt sind.

Tabelle IV.

Zusatz von KJ mg	Durch Hyposulfittitration analysiert mg	Cyankaliumzusatz ccm	Bemerkungen
44,4	44,3	1	
141,8	141,6	1	Mittelwert von sechs in Tab. II angeführten Analysen
165,7	165,8	1	
192,8	192,8	2	
286,0	265,8	2	

In dieser Tabelle sind die Werte der in Tabelle I, S. 3 angeführten Substanzmengen wiedergegeben, diesmal aber so, wie sie durch Rücktitration mittels Hyposulfit nach vorhergegangener Permanganattitration erscheinen. Vor der Hyposulfittitration wurde ein Tropfen 0,1 n Oxalsäurelösung dazugegeben, um den für den Permanganatumschlag notwendigen Überschuß zu reduzieren.

Tabelle V.

KJ-Zusatz mg	Durch Hyposulfittitration analysiert mg	KJ-Zusatz mg	Durch Hyposulfittitration analysiert mg
0,83	0,83	8,30	8,30
1,66	1,68	16,57	16,57
4,15	4,15		

In dieser Tabelle sind Analysenresultate geringerer Jodkaliummengen angeführt. Die Proben, die aus bestimmten Volumina einer 0,01 n

(0,8301 g pro Liter) KJ-Lösung bestanden, wurden vor der Oxydation mit 0,25 ccm 10proz. Cyanidlösung sowie 10 ccm verdünnter Schwefelsäure (1:10) versetzt und mit Aqua dest. zu ungefähr 100 ccm verdünnt. Der Umschlag bei der Hyposulfittitration wurde dadurch verschärft, daß ich gegen Ende der Titration der Lösung einige Körnchen KJ zusetzte.

Die angeführten Ziffern entsprechen allen Forderungen, die man an analytische Genauigkeit stellen kann. Aus den zuletzt angeführten Werten, bei welchen es sich um äußerst geringe Quantitäten handelt, geht hervor, daß sich die Hyposulfitmethode ohne größere Schwierigkeit auch zu reinen Mikrobestimmungen eignet. Besonders hier möge betont werden, daß jedem Jodkaliummolekül zwei Hyposulfitmoleküle entsprechen, ein Umstand, der natürlich zur Genauigkeit der Analyse beiträgt.

III. Umstände, die bei den oxydimetrischen und jodometrischen Bestimmungsmethoden zu beobachten sind.

Natürlich sind Umstände, welche auf die in dieser Abhandlung beschriebenen Methoden störend einwirken können, möglich oder denkbar. Ich will zuerst auf Erscheinungen eingehen, die direkt mit den Methoden an sich verknüpft sind. So können wir uns fragen, welche Rolle die Verschiedenheiten in der Acidität und im Cyanwasserstoffgehalt spielen. Es liegt auf der Hand, daß die Anwendbarkeit der Methoden sehr problematisch wäre, wenn sie hier eine große Empfindlichkeit aufwiesen.

Wir wollen zuerst sehen, welche Rolle die Acidität spielt. Da die Reaktionen in saurer Lösung stattfinden, muß ein gewisser Überschuß an Säure existieren, und zwar mit Rücksicht auf die Permanganatoxydation so viel, daß die Probe trotz der durch die Oxydation zugeführten Alkalität nach der Oxydation sauer ist; anderenfalls würden die Mangansuperoxyde gefällt werden. Andererseits darf die Säuremenge nicht allzu groß sein, da wir wissen, daß der entstandene Jodwasserstoff in diesem Falle unter Reduktion von Säure zerfällt. Dieselben Umstände lassen sich ja im allgemeinen auch mit Rücksicht auf die später erfolgende Hyposulfittitration beobachten, da das Jod den Hyposulfitzusatz in alkalischer Lösung nicht zu Tetrathionsäure oxydiert, sondern wenigstens partiell zu Schwefelsäure, während dagegen der Stärkeumschlag bei zu großer Acidität unempfindlich wird. Übrigens ist zu bemerken, daß Jodcyan schon in neutraler Lösung Hyposulfit zu Schwefelsäure oxydiert (*Meineke*, l. c.). Beachtet man diese Umstände, so erhält man trotz stark wechselnder Acidität gute Werte, wie aus Tabelle VI hervorgeht.

Tabelle VI.

Experimente, welche zeigen, daß Verschiedenheiten in der Acidität ohne Bedeutung sind.

Die Proben bestanden aus 19,96 ccm einer 0,1 n KJ-Lösung, also pro Probe 165,7 mg; 1 ccm 10proz. Cyankaliumlösung wurde hinzugesetzt und ebenso verschiedene Mengen verdünnter Schwefelsäure (1 : 10). Ich titrierte die Proben zuerst mit eingestellter Permanganatlösung und nach der Reduktion des Permanganatüberschusses mit einem Tropfen 0,1 n Oxalsäurelösung mit Hyposulfit.

Durch Permanganattitration analysiertes KJ mg	Durch Hyposulfittitration analysiertes KJ mg	Schwefelsäuremenge ccm
165,8	165,4	10
165,7	165,6	20
165,8	165,7	30

Daraus geht hervor, daß Säure auch in beträchtlich verschiedenen Konzentrationen keinerlei Einwirkung ausübt. Doch ist es von Bedeutung, daß die Probe bei der Permanganattitration in ständiger Bewegung erhalten wird (man gibt die Flüssigkeit am besten in einen Erlenmeyerkolben), wie es auch mehr als sonst notwendig ist, daß man die Titerflüssigkeit tropfenweise zusetzt, da sonst leicht ein Mehrverbrauch von Permanganatlösung zustande kommt[1]).

Es war wichtig, die Bedeutung des Vorhandenseins eines Überschusses an Cyanid zu kennen. Während einige glauben, freies Jod ließe sich beim Vorhandensein größerer Mengen Cyanids nicht in gewöhnlicher Weise bestimmen (*Anderson* und *Smith*, 1899), meinen andere, das Cyanid sei dabei ohne Einwirkung (*Sulman* und *Teed*, 1897, zitiert von *Anderson* und *Smith*, l. c.). Wie vorher erwähnt wurde, fand man allerdings, daß sich Jodcyan ohne weiteres wie freies Jod titrieren lasse (*Meineke*, l. c.), und es gibt für die Bestimmung der

[1]) *Lang* (1922) behauptet im Gegensatz zu mir, daß sich bei der Permanganattitration der Jodide bis zur Rosafärbung (er verwendete anstatt dessen Stärke als Indikator) unregelmäßige und zu hohe Werte ergaben. Diese Verschiedenheit der Resultate beruht auf folgenden Ursachen. Wie ich eben erwähnte, muß man die Probe während der Permanganattitration schütteln und darf die Titerflüssigkeit nicht zu rasch hinzugeben; ich erhielt erst dann genaue Werte, als ich diese Umstände strikt beachtete. Außerdem waren die Cyanidmengen, welche *Lang* zur Probe hinzufügte, zwei- bis dreimal so groß wie in meinen Versuchen (= 0,1 n), ein weiterer Umstand, der einen Mehrverbrauch hervorrief. Wie ich schon oben hervorgehoben hatte, begünstigten stärkere Aciditäten leicht einen zu großen Permanganatverbrauch; tatsächlich sind auch die von *Lang* angewandten Aciditäten größer (50 ccm 2,5 bis 5 n Schwefelsäure zu jeder Probe) als die im allgemeinen von mir gebrauchten.

Jodide und Rhodanide sogar jodometrische Methoden, die sich ganz einfach nicht verwenden ließen, wenn die Cyanide störten (*Schulek*, 1923). Indessen kann es sich bei einer Methode wie der meinigen um die Bestimmung sehr geringer Jodidmengen handeln, wobei die für die Analyse hinzugefügte Cyanidmenge vielleicht ausreichen könnte, um die Analyse unmöglich zu machen. Die oben genannten Resultate, besonders in Tabelle V, sprechen gegen eine solche Annahme, aber da die von *Anderson* und *Smith* (l. c.) dargelegten Resultate meinen direkt widersprachen, gab es keinen besseren Ausweg, als die Resultate direkter Experimente als Gegenbeweis vorzulegen.

Tabelle VII.

Experimente, welche beweisen, daß Cyanidüberschüsse die Bestimmung von freiem Jod nicht stören.

Jeder Probe wurden verschiedene Mengen einer 10proz. Cyankaliumlösung, 10 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 : 10), sowie 19,96 ccm einer nicht ganz 0,01 n Jodlösung, die mit einer ungefähr 0,01 n Hyposulfitlösung titriert wurde, beigemischt.

Cyankalium mg	Hyposulfit ccm	Cyankalium mg	Hyposulfit ccm	Bemerkungen
0	18,90	200	18,90	Umschlag durch KJ-Zusatz verschärft
25	18,90	500	18,90	
100	18,90	1000	18,87	

Wir finden ohne weiteres, daß das vorhandene Cyanid in den Quantitäten, um die es sich hier handelt, nicht das geringste bedeutet. Erst in der allerletzten Analyse ist eine kleine Einwirkung bemerkbar, was vermutlich auf irgend einer vorhandenen Verunreinigung des Cyanids beruht. *Anderson* und *Smith*, die allerdings bedeutend größere Cyanidmengen benutzten, fanden einen schon bei geringem Cyanidzusatz sehr ausgeprägten Minderverbrauch von Hyposulfit. Das hat sicher in der Acidität ihrer Proben seine Ursache, denn sie mischten dem Cyanid nur „a slight excess of hydrochloric acid“ bei. Im neutralen Zustande oxydiert Jodcyan das Hyposulfit zu Schwefelsäure, und die Stärkeumschläge werden jetzt besonders undeutlich, da das Gleichgewicht im System

$$JCN + KJ \rightleftharpoons KCN + J_2$$

stark zugunsten des Jodcyanids verschoben ist, was darauf beruht, daß Jod in neutraler oder alkalischer Lösung stärker oxydierend wirkt. Will man die Jodstärkefarbe hervortreten lassen, so ist man bei großen Cyanidüberschüssen immer gezwungen, Jodid zuzusetzen, was das Gleichgewichtssystem zugunsten einer Bildung von freiem Jod verschieben muß. Die beiden Verfasser setzten zu ihren Cyanidlösungen

50 ccm einer „iodine solution (with a little K J) containing about 0,5 grm of iodine per litre“ hinzu, weshalb die Annahme begründet erscheint, daß auch dieser Umstand eingewirkt habe. Bei meinen Experimenten erhielt ich, wenn der Cyanidzusatz groß und die Jodmenge gering war, im Laufe der Hyposulfittitration oft trotz zugesetzter Stärkelösung nicht einmal eine Reaktion, die ein spurenhaftes Vorkommen von Jod andeutete, aber beim Zusatz von einigen Körnchen Jodkalium trat die Jodstärkefarbe sofort auf. Daraus läßt sich deutlich ersehen, daß man bei Anwendung der richtigen Technik und bei wenigstens nicht zu großen Cyanidüberschüssen jede Spur von Jod durch Titration mit Hyposulfit genau bestimmen kann.

Doch treten in den von mir früher beschriebenen Analysenmethoden noch andere Umstände hinzu; so läßt es sich z. B. denken, daß die Permanganattitration bei großen Cyanidzusätzen fehlerhaft werden könnte. Außerdem besteht für die Konzentration der Cyanide ein Grenzwert, unter den man nicht herabgehen darf: das hinzugefügte Cyanid muß zur Bindung des ganzen in der Probe vorhandenen Jods in Form von Jodcyan ausreichen. Ist die Cyanidmenge zu gering, so zeigt es sich, daß das oxydierte Jod entweder ausfällt oder daß die Flüssigkeit eine immer dunklere braune Farbe annimmt, zu der auch die Permanganatfarbe hinzutritt, da die Oxydation von Jod zu Jodsäure recht langsam erfolgt. Gibt man nun Cyanid dazu, so wird die Probe momentan heller und hat keinen direkten Schaden erfahren, soweit keine Übertitrierung eingetreten ist, was sich ja leicht beobachten läßt; in diesem Falle bleibt eine Mangansuperoxydfällung oder auch eine deutliche Permanganatfarbe. (Es ist auch wichtig, daß man darauf achtet, daß die Acidität nicht zu gering ist.) Eine bestimmte obere Grenze läßt sich aus theoretischen Gründen nicht erwarten. Aus nachstehenden, in Tabelle VIII angeführten Experimenten geht hervor, daß Unterschiede in der Cyanidkonzentration keine störende Wirkung ausüben.

Tabelle VIII.

Experimente, welche zeigen, daß der Cyanidgehalt keinen Einfluß ausübt.

Die Proben bestanden aus 19,96 ccm einer 0,1 n K J-Lösung (8,301 g pro Liter, also 165,7 mg K J pro Probe), wozu wechselnde Mengen einer 10proz. Cyankaliumlösung sowie 10 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 : 10) gegeben wurden.

Durch Permanganattitration analysiertes K J mg	Durch Hyposulfittitration analysiertes K J mg	Menge der Cyankaliumlösung ccm
165,8	165,7	1
166,2	165,7	2
166,6	165,7	5

Der Cyanidüberschuß war in diesem Falle nicht ganz ohne Einfluß, was einen Mehrverbrauch von Permanganat bewirkte, aber das beruhte vermutlich auf einer Oxydation von Verunreinigungen im Cyanid, das kein „Pro-analysi"-präparat war. Indessen ist die Störung sehr gering. Daß man sie ganz außer acht lassen kann, zeigt folgende Berechnung: Für 0,1 g KJ braucht man ungefähr 0,04 g KCN (= 0,4 ccm 10proz. Cyankaliumlösung, und deshalb sind offenbar Zusätze größerer Cyanidmengen in einer zur Analyse vorliegenden Jodidprobe nicht nötig, da die Größe der Proben auch mit Rücksicht auf die gewöhnliche titrimetrische Praxis begrenzt werden muß.

Ein Problem, das man bei jeder jodanalytischen Methode gebührend berücksichtigen muß, entsteht durch die Anwesenheit von Verbindungen der anderen Halogene. Doch stören die Chloride gar nicht. Das ist aus Tabelle IX zu ersehen.

Tabelle IX.

Experimente mit Jodidanalyse bei gleichzeitigem Vorhandensein von Kochsalz.

Der Jodidmenge (eine 19,96 ccm 0,1 n KJ-Lösung, entsprechend 165,7 mg) wurden verschiedene Mengen gesättigter Chlornatriumlösung zugesetzt. Die übrigen Zusätze waren dieselben wie früher.

Durch Permanganattitration analysiertes KJ mg	Durch Hyposulfittitration analysiertes KJ mg	Menge der Chlornatriumlösung ccm
165,8	165,7	1
165,5	165,6	2
165,7	165,8	5

Daraus geht hervor, daß unter diesen Verhältnissen keine Bildung von Chlorjod zustande kommen kann. Um eine solche Reaktion hervorzurufen, muß eine bedeutend höhere Acidität bestehen, und der Cyanidzusatz gliedert die Reaktion in eine ganz bestimmte Kette ein.

Dagegen stören Bromide um so mehr, nicht nur die Permanganattitration (ein Umstand, den *Mc Culloch*, l. c., konstatiert hat), sondern, wenn diese unmöglich gemacht war, so war damit auch die folgende Analyse mit Hyposulfit unausführbar. Bei der Oxydation bilden sich nämlich nicht nur Jod und Jodcyan, sondern außerdem und gleichzeitig Brom und Bromcyan.

Ich beschäftigte mich mit diesem Problem nur vorübergehend, und es ist in dieser Abhandlung keineswegs endgültig gelöst. Doch kam ich ein Stück weiter und ein Referat über die bisher zugänglichen Resultate kann von Interesse sein.

Wenn es sich um eine Frage wie diese handelt, so müssen wir uns klar machen, daß zwei Analysenverfahren eng miteinander ver-

bunden sind, das oxydimetrische und das jodometrische Verfahren. Ich versuchte nun, die bromidhaltigen Jodidproben der jodometrischen Analyse als der genauesten zugänglich zu machen, behielt aber die Permanganatoxydation als solche als ein notwendiges Vorstadium in der Analyse bei. Das bei der Oxydation frei gewordene Brom wurde durch einen *gleichzeitigen* Zusatz von Salicylsäure unschädlich gemacht. Sie reagiert auf das frei gewordene Brom nach der Formel

$$C_2H_4(OH)COOH + 6\,Br = C_6HBr_3(OH)COOH + 3\,HBr,$$

während das frei gewordene Jod in saurer Lösung intakt bleibt und Jodcyan bildet. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Cyanid muß die Salicylsäure vorhanden sein und auf das Brom im *statu nascendi* reagieren; dagegen ist sie ohne Einwirkung, wenn sich das Brom in Bromcyan verwandelt hat. Schwierig war es zu konstatieren, wann sich die ganze vorhandene Jodidmenge in Jodcyan verwandelt hatte. Zu diesem Zwecke setzte ich der Lösung bei der Permanganatoxydation Stärkelösung als Indikator zu, und das Verschwinden der auftretenden Blaufärbung war ein Zeichen der beendigten Oxydation. Ehe die Jodstärkefarbe verschwand, nahm die Stärke violette oder braune Nuancen an, und die Farbe der Lösung ging endlich in Hellgelb über.

Natürlich war der Permanganatverbrauch ein Wert ohne jede quantitativ analytische Bedeutung; er enthielt die für die Jodidoxydation erforderliche Menge, außerdem aber auch der zur Oxydation

Tabelle X.

Resultate der Analyse von Jodiden bei Anwesenheit von Bromiden.

Zu den Proben wurden bestimmte Mengen Jodid hinzugefügt, ferner 1 g KBr-Säure, außerdem 1 ccm Salicylsäurelösung (10 g Salicylsäure und 20 ccm 15proz. NaOH auf 100 ccm Lösung), 0,25 ccm 10proz. Cyankaliumlösung und 10 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 : 10). Die Experimente bilden eine Parallelserie zu der in Tabelle V, S. 8 angeführten Serie.

KJ-Zusatz mg	Durch Hyposulfittitration analysiert mg	KJ-Zusatz mg	Durch Hyposulfittitration analysiert mg
0,83	0,84	8,30	8,30
1,66	1,67	16,57	16,59
4,15	4,15		

der vorhandenen Bromide nötige Verbrauch. Außerdem wird auch die Salicylsäure durch Permanganat sehr leicht oxydiert. Dagegen erhielt man bei der Hyposulfittitration im allgemeinen sehr zufriedenstellende Werte, was aus der angeführten Tabelle X zu ersehen ist.

Die angeführten Werte zeigen, daß man mit Hilfe dieser Technik eine Probe trotz bedeutenden Bromidüberschusses sehr rasch und

zuverlässig auf ihren Jodidgehalt analysieren kann. Doch habe ich die Technik, die bei hohen Jodidgehalten den Forderungen nicht zu entsprechen scheint, nicht ganz durchgearbeitet. Übrigens löste *Lang* (l. c.) dieses Problem, das dem Ziele meiner Untersuchungen ziemlich fern lag, durch Anwendung anderer Reaktionen.

IV. Jodkalium als oxydimetrische und jodometrische Urtitersubstanz.

Hätte ich nur die Darlegung neuer jodidanalytischer Methoden beabsichtigt, so wäre ich im vorhergehenden keineswegs so detailliert auf die Sache eingegangen. Aber die primäre Ursache dieser Untersuchung war der Umstand, daß die Urtitersubstanzen, von denen wir vor allem bei der Einstellung von Hyposulfitlösungen auszugehen haben, entweder bezüglich ihrer Wirkung sehr umstritten oder auch zu umständlich sind, um zur Verwendung zu gelangen, wenn man keinen Zutritt zu gut versehenen Laboratorien hat. Auch die Einstellungsmethoden für Permanganatlösungen sind nicht ohne Nachteile.

A. Einstellungsmethoden für Permanganatlösungen.

Zu Beginn will ich kurz die gebräuchlichen Methoden für die Einstellung von Permanganatlösungen referieren. Diese sind, wie bekannt, beim geringsten Zusatz von reduzierenden Stoffen sehr veränderlich und lassen sich aus der gleichen Ursache nicht ohne weiteres durch Abwägen bestimmter Substanzquantitäten darstellen.

1. *Einstellung mit Oxalsäure.* Diese Methode ist sicher, aber leidet daran, daß die Substanzen eigens für diesen Zweck gewogen werden müssen. Auf die Dauer haltbare Lösungen lassen sich nicht darstellen.

2. *Einstellung mittels Natriumoxalats.* Diese Methode erfordert mit Rücksicht auf die Permanganateinstellung dasselbe wie die früher referierte. Sie ist insofern überlegen, als man die Substanz leichter rein erhalten und acidimetrisch kontrollieren kann.

3. *Einstellung mittels elektrolytisch dargestellten Eisens.* Auch diese Methode ist vielfach im Gebrauch, doch muß die Substanz jedesmal abgewogen werden, da sich haltbare Ferrolösungen nicht darstellen lassen.

4. *Einstellung mittels Hyposulfits.* Diese Methode läßt sich anwenden, falls man über vorher eingestelltes Hyposulfit verfügt. Sie ist natürlich umständlich, denn sie erfordert zwei Einstellungsprozeduren, wozu noch kommt, daß man bei der Hyposulfiteinstellung oft auf die analytische Wage angewiesen ist.

5. *Einstellung mittels Wasserstoffperoxyds.* Die Anwendung dieser Methode erfordert eine spezielle Apparatur und setzt daher ein gut ausgerüstetes Laboratorium voraus.

Daraus läßt sich ohne weiteres ersehen, daß die Einstellungsmethoden für Permanganat, wiewohl sie sehr korrekt und einfach anzuwenden, doch insofern anspruchsvoll sind, als sich keine der Substanzen, deren man zur direkten Einstellung der Lösung bedarf, in Form von *konstanten* Lösungen verwahren läßt.

B. *Einstellungsmethoden für Hyposulfitlösungen.*

Ich will nun auch über die gebräuchlichen Methoden für die Einstellung von Hyposulfitlösungen berichten. Diese sind, wie bekannt, niemals haltbar, wiewohl die Art ihrer Inkonstanz und ebenso deren Ursachen noch sehr wenig erforscht sind. Während einige fanden, die Lösungen würden mit der Zeit stärker, konstatierten andere, sie würden schwächer. Besonders die 0,01 n Lösungen sind nach meiner persönlichen Erfahrung äußerst inkonstant.

1. *Einstellung mittels Jods.* Diese Substanz muß jedesmal abgewogen werden, und die Wägung erfordert besonders bei der Einstellung von 0,01 n oder noch schwächeren Lösungen genaue Arbeit. Soll die Substanz in Form von Jodjodkaliumlösung verwendet werden, so muß man diese gleichzeitig einstellen, da sie sehr inkonstant ist. Ferner ist das Jod oft durch Jodcyan und andere Halogenverbindungen verunreinigt, und die Reinigung ist eine recht komplizierte Prozedur (*Winkler*, 1914).

2. *Einstellung mittels Bijodats.* Bijodatlösungen sind haltbar, aber leider läßt sich diese Substanz nicht so rein gewinnen, daß man sie ohne weiteres abwägen kann. Die Lösung muß also ihrerseits eingestellt werden.

3. *Titerstellung mit Kaliumjodat.* Diese Substanz soll man ganz rein erhalten können, und insofern unterscheidet sie sich vorteilhaft vom Bijodat. Gleich diesem besitzt sie aber ein geringes Reaktionsgewicht und erfordert daher äußerst genaue Wägungen, besonders wenn es sich um die Darstellung von Lösungen mit niedriger Konzentration handelt.

4. *Titerstellung mit Oxalsäure.* Man gibt eine genau bestimmte Quantität Oxalsäure zu einer Lösung von Jodid und Jodat im Überschuß, wozu man Calcium- oder Magnesiumchlorid fügt, damit die Reaktion vollständig beendigt werden kann. Ich untersuchte die Methode nicht, die aber nach der Versicherung hervorragender Autoritäten sehr gut sein soll. Die Methode ist insoweit kompliziert, als die Oxalsäure jedesmal gewogen werden muß, da sich besser haltbare Lösungen nicht darstellen lassen, ohne daß sich gleichzeitig die Acidität verändert.

5. *Titerstellung mit bekannter Permanganatlösung.* Das ist die bekannte *Volhard*sche Methode (l. c.), die, wenn es sich um 0,1 n Lösung handelt, sehr sichere Resultate ergibt. Aber die Permanganatlösung muß ihrerseits eingestellt werden, was die Methode umständlich macht. Handelt es sich um die Einstellung von ungefähr 0,01 n Hyposulfitlösungen, so läßt sich die Methode übrigens kaum anwenden, da sich die entsprechenden Permanganatlösungen kaum anders als durch *eingestelltes* Hyposulfit einstellen lassen.

6. *Titerstellung mit Ferricyankalium.* Diese Methode schlug *Kolthoff* (1920) vor. Sie ist der Jodmethode insofern überlegen, da hier eine Substanz mit sehr hohem Äquivalentgewicht zur Verwendung gelangt, die leicht gewogen werden kann. Dagegen läßt sie sich nicht als Lösung verwahren, denn diese wird sehr rasch zerstört.

7. *Titerstellung mit Jodcyan.* Es ist mir nicht bekannt, ob sie sich als Lösung verwahren läßt. Jedenfalls ist diese Substanz ziemlich flüchtig.

8. *Titerstellung mit Bichromat.* Bezüglich dieser Substanz, die wohl viele Jahre hindurch die gebräuchlichste Urtitersubstanz der Jodometrie war, gelangte man in allerletzter Zeit mit Rücksicht auf ihre quantitative Bedeutung zu sehr verschiedenen Resultaten.

Von allgemeinen Gesichtspunkten aus hat die von *Zulkowski* (1868) ausgearbeitete Methode mehrere und wesentliche Vorteile. Ihr Äqui-

valentgewicht ist groß und die Lösungen sind haltbar. Man hat lange geglaubt, daß Kaliumbichromat meistens ganz rein ist, das ist aber ein Irrtum, denn die meisten Kaliumbichromatpräparate, auch für den analytischen Gebrauch, sind durch Chromsäure verunreinigt (*Kolthoff*, l. c.), ein Umstand, der sich nur elektrometrisch nachweisen läßt; doch bedeutet eine solche im allgemeinen unbedeutende Verunreinigung nicht viel. Auch gegen den Umschlag ließen sich Einwendungen vorbringen, der einen Übergang von der blauen Jodstärkefarbe zur grünen Chromisalzfarbe darstellt und deshalb nicht sehr deutlich ist, sich aber bei einiger Übung ohne Schwierigkeit konstatieren läßt. Außer *Zulkowski* selbst (l. c.) sprachen sich mehrere Verfasser sehr für die Methode aus, so z. B. *Bruhn* (1916, 1917), *Kolthoff* (l. c.), *Jander* und *Beste* (1924). Andere Verfasser, besonders *Wagner* (1899) und *Meindl* (1919) sprachen sich aber in ganz anderer Richtung aus.

Ich machte ziemlich viele Experimente, um die Sicherheit der Titerbestimmungen mit 0,01n Bichromatlösungen klarzulegen, gelangte jedoch zu keiner bestimmten Auffassung. So viel wurde mir indessen klar, daß die Methode gegenüber sonst unwesentlichen Nebenumständen, die andere Einstellungsmethoden nicht stören, äußerst empfindlich ist, und das ist sichtlich die Ursache so verschiedener Anschauungen. Vor allem scheinen Verunreinigungen im Reagens, besonders im Jodkalium und in der Salzsäure, hier eine ungeahnte Rolle zu spielen, was im allgemeinen auf eine sehr sonderbare Weise zum Ausdruck kam: gab man die nicht angesäuerte Jodkaliumlösung zur Bichromatlösung und erst nachher die erforderliche Menge Salzsäure, so erhielt man als Resultat einen Verbrauch an Hyposulfitlösung, der das Erforderliche weit überstieg. Dieser Unterschied trat auch hervor, *wenn die Reagenzmenge und die Verdünnungen gleich waren.* Am besten wurden die Werte, wenn man die Bichromatlösung zu der vorher angesäuerten Jodkaliumlösung gab. Säuerte man die Biochromatlösung zuerst an und setzte dann Jodkalium zu, so erhielt man ebenfalls einen Mehrverbrauch, sein Wert lag aber in der Regel ungefähr in der Mitte zwischen den Werten, die man bei Verwendung der anderen Methoden erhielt. *Je größer die Acidität war,* desto ausgeprägter traten diese Mehrverbrauchsphänomene auf.

Eine detaillierte Beschreibung der verschiedenen, nach mehreren Verfahren von mir erhaltenen Resultate würde zu viel Platz in Anspruch nehmen, besonders da ich noch zu keiner für alle Fälle gültigen Erklärung gelangt bin. Doch sieht es so aus, als ob die Anwesenheit von Bichromat die Wirkung der in der Reaktion gleichzeitig vorhandenen Jodsäure wenigstens in manchen Fällen induzierte und bis zum äußersten steigerte. Behandelte ich nämlich das Jodkalium vor der Anwendung mit Salzsäure und Zinkstaub, so erhielt ich sehr

konstante Werte ohne eine Andeutung von Hyposulfitmehrverbrauch, während ein solcher stattfand, auch wenn ich das Jodkalium vor dem Bichromatzusatz angesäuert hatte. Aus folgender Ursache möchte ich annehmen, daß das Bichromat hier induzierend wirkt: in Blindproben mit Jodkalium und Salzsäure, aber mit Ausschluß von Bichromat war die Menge des ausgeschiedenen Jods bedeutend geringer, als es dem Hyposulfitmehrverbrauch in mit den gleichen Mengen Reagens und mit derselben Verdünnung vorgenommenen Proben entsprach, die außerdem mit Bichromat versetzt worden waren. Ferner kam bei Analysen nach der Bijodatmethode kein solcher größerer Mehrverbrauch zustande und ließ sich ohne weiteres durch parallele Blindproben korrigieren.

Offenbar ist die Bichromatmethode noch keineswegs klar und muß umfassenden Prüfungen unterzogen werden, wobei man sich genau in acht nehmen muß, um nicht von der einen oder anderen vorgefaßten Meinung auszugehen.

Man hat andere Einstellungsmethoden vorgeschlagen, z. B. vermittelst Kaliumbromat, Chloramin usw., aber wir können aus der Vielfältigkeit der Verfahren schließen, daß die verschiedenen Methoden in der einen oder anderen Hinsicht Mängel aufweisen, welche die neuen Methoden zu vermeiden trachten. Meiner Meinung nach ist es der unangenehmste Nachteil aller Methoden, daß bei ihrer Anwendung immer *ein Überschuß gleichzeitig vorhandenen Jodids erforderlich ist.* Ich erwähnte, wie ungemein empfindlich die Bichromateinstellungsmethode gegenüber eventuell vorhandenen Verunreinigungen im Reagens ist, und es ist äußerst schwierig, vollkommen tadelloses Jodkalium zu erhalten. Auch die anderen Methoden erfordern eine gute Qualität des zur Verwendung gelangenden Jodkaliums. Kann man so weit kommen, daß sich ein Überschuß des genannten Reagens vermeiden läßt, so muß die Titereinstellungsmethode im gleichen Maße sicherer werden. Ebenso ist es von großem Vorteil, wenn die dargestellten Lösungen haltbar sind, so daß man die Urtitersubstanz nicht jedesmal abzuwägen braucht. Ferner ist es von höchster Bedeutung, daß die Urtitersubstanz ein möglichst hohes Reaktionsgewicht besitzt. Aus letztgenannter Ursache ist es meist keine leichte Aufgabe, 0,01n Hyposulfitlösung, die in der quantitativen Analyse oft verwendet wird, durch eine abgewogene Substanz einzustellen.

C. Einstellung von Permanganat und Hyposulfitlösungen mittels Jodkaliums oder Jodkaliumlösungen.

Wir hatten bereits öfter Gelegenheit, in den oben angeführten Tabellen die Zuverlässigkeit der neuen Analysenmethoden zu prüfen, und es kann daher kaum in Erstaunen setzen, wenn man sie, falls es

sich um die Einstellung von Permanganat- oder Hyposulfitlösungen handelt, als Ausgangsmethoden empfiehlt. Als geeignete Urtitersubstanz bietet sich besonders das Jodkalium dar. Es bildet kein Spezialreagens. Es ist in hinreichend reinem Zustande erhältlich. Allerdings enthält es oft eine geringe Spur von Jodat, aber diese Verunreinigung ist *hier von verschwindend geringer Bedeutung*, da der Fehler nur der prozentuellen Zusammensetzung der Substanz direkt entspricht. Bei Anwendung der oben referierten Methoden für Hyposulfiteinstellung bedeuten auch kleine Fehler in der Zusammensetzung des Jodkaliums viel, da die Substanz *im Überschuß* vorhanden sein muß. Sie hat ein hohes Äquivalentgewicht, in diesem Falle das halbe Molekulargewicht, und läßt sich, auch wenn es sich um die Darstellung einer 0,01n Lösung handelt, leicht abwägen. Sie ist allerdings etwas hygroskopisch, aber die Substanz läßt sich leicht trocknen und bei einer raschen Wägung, wobei man am besten auch die Wage mit Schwefelsäure trocknet, riskiert man keinen bedeutenderen Fehler. Jodkalium läßt sich unverändert in Lösungen verwahren, wenn man von der Vorsichtsmaßregel Gebrauch macht und die Lösung mit einer geringen Quantität Natronhydrat versetzt. Der wichtigste Vorteil ist aber, daß man mit derselben Substanz zwei in der titrimetrischen Analyse oft verwendete Lösungen, deren richtige Einstellung *zueinander* sonst sehr schwer zu erreichen ist, ohne weiteres einstellen kann. Die dabei vorhandenen Schwierigkeiten sind leicht einzusehen, wenn man z. B. *Volhards* Einstellungsmethode von folgenden Gesichtspunkten aus betrachtet: stellt man bei Hyposulfiteinstellung dessen Titer 2 Prom. *zu hoch* ein, so ergibt sich als Folge, daß der Titer der Permanganatlösung 2 Prom. zu *niedrig* zu stehen kommt, und der Titerwert beider Lösungen ist um 4 Prom. in Beziehung zueinander verschoben. Geht man dagegen bei Verwendung der von mir vorgeschlagenen Methode von Jodkaliumlösung von einem um 2 Prom. zu hohen Titerwert aus, so werden bei richtiger Einstellung die Wirkungswerte der Permanganat- wie auch der Hyposulfitlösungen 2 Prom. zu niedrig und ihr Verhältnis zueinander bleibt richtig.

Ehe ich aber das Problem verlasse, will ich die neuen Methoden gerade von diesem neuen Gesichtspunkt aus beleuchten, indem ich die Resultate einiger Experimente anführe. Dabei verwendete ich Permanganat- und Hyposulfitlösungen, deren letztere ich mit abgewogenem Jod und deren erstere ich mit einer 0,1n Natriumoxalatlösung einstellte; außerdem stellte ich sie nach *Volhard* im Verhältnis zueinander ein. Ferner verwendete ich zur Einstellung der beiden Lösungen eine 0,1n Jodkaliumlösung als Standard. Bei ihrer Bereitung bediente ich mich des Jodkaliums *pro analysi* von *Merck*, wovon 8,301 g abgewogen wurden. Nach der Wägung wurde das Präparat bei + 170° C getrocknet und

kühlte darauf im Exsikkator über konzentrierter Schwefelsäure ab. Bei erneuter Wägung wurde noch KJ zugesetzt, um den Gewichtsverlust zu decken. Das Resultat der Analysen ist in Tabelle XI angeführt.

Tabelle XI.

Mit Jod eingestellter Titer der Hyposulfitlösung	0,1011
„ Permanganat (eingestellt mit Oxalat) eingestellter Titer der Hyposulfitlösung	0,1011
„ Jodkalium eingestellter Titer der Hyposulfitlösung	0,1012
„ Oxalat „ „ „ Permanganatlösung. . . .	0,1007
„ Jod „ „ „ „ . . .	0,1006
„ Jodkalium „ „ „ „ . . .	0,1007

Bezüglich der Einstellung von 0,01n Permanganatlösungen betonte ich früher, daß sie in der titrimetrischen Praxis selten angewendet werden, da der Umschlag bei dieser Konzentration sehr undeutlich ist. Dagegen untersuchte ich die neuen Methoden mit Rücksicht auf die Einstellung von 0,01n Hyposulfitlösungen und fand, daß die Methode dabei nichts zu wünschen übrig läßt. Auch die in den Tabellen V und X angegebenen Werte beweisen die Anwendbarkeit der Methode. Doch will ich in Tabelle XII eine besondere Versuchsreihe über diesen Gegenstand wiedergeben. Dabei verwendete ich teils 0,009992n Bijodatlösung, durch Verdünnung von 100 ccm einer 0,09992 n Lösung (letztere mittels abgewogenem Jod eingestellt) mit Aqua dest. zu 1 Liter Lösung dargestellt, sowie eine 0,01n KJ-Lösung dargestellt durch Verdünnung von 100 ccm einer 0,1n Lösung (8,301 g KJ pro Liter) zu 1 Liter Lösung. Bei den Verdünnungen der verschiedenen Lösungen verwendete ich dieselben Meßkolben. Bei den Vergleichseinstellungen von Hyposulfit mittels Bijodat- und Jodkaliumlösungen nahm ich jedesmal 19,96 ccm (gleiche Pipette in allen Fällen) der betreffenden Lösungen. Nach der Permanganatoxydation setzte ich einen Tropfen 0,1n Oxalatlösung zur Reduktion des Permanganatüberschusses hinzu. Den Proben wurden 0,25 ccm 10proz. Cyankaliumlösung und 10 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 : 10) zugesetzt.

Tabelle XII.

	Standardlösung	Hyposulfitzusatz ccm	Normalität	Mittelwert der Normalität
A	Bijodat . .	19,57	0,010 191	0,010 19
	„ . .	19,59	0,010 181	
	„ . .	19,58	0,010 185	
B	Jodkalium	19,60	0,010 184	0,010 19
	„	19,58	0,010 194	
	„	19,60	0,010 184	

Ein Vergleich der Werte in den Teilserien A und B zeigt ohne weiteres, daß die neue Methode vollkommen quantitativ ist. Es ist noch zu erwähnen, daß der Cyanidgehalt unnötig hoch genommen wurde. In diesem Falle hätte z. B. 1,5 ccm einer 1 proz. Lösung gereicht.

Sonst möchte ich schließlich darauf hinweisen, daß die neuen Einstellungsmethoden nicht nur für Permanganat, sondern auch für Hyposulfit äußerst einfach sind und in diesem Punkte mit jeder anderen Methode verglichen werden können. Eine Hyposulfittitration inklusive der Permanganatoxydation nimmt nur wenige Minuten in Anspruch.

Aus den Untersuchungen *Langs* (l. c.) geht deutlich hervor, daß auch eine Einstellung von Jodatlösungen (und natürlich auch Bijodatlösungen) mit Jodkalium möglich sein muß. Übrigens werde ich binnen kurzem das Problem untersuchen, ob sich das Jodkalium nicht auch als Urtitersubstanz bei der genauen Einstellung von Silberlösungen verwenden läßt.

Zusammenfassung.

1. Eine leicht anwendbare Analysenmethode für Jodide ist die von *Mc Culloch* (1888) vorgeschlagene Methode, die in einer Oxydation der Probe mittels Permanganat in saurer Lösung bei Anwesenheit von Cyankalium besteht. Der Umschlag, den ein entstehender Permanganatüberschuß bezeichnet, markiert den Punkt, wo das ganze in der Probe vorhandene Jodid zu Jodcyan oxydiert ist. Die Methode eignet sich aber nicht zur Analyse geringer Jodidmengen, da das Permanganat als Titerflüssigkeit in relativ stark konzentrierten Lösungen (0,1 bis 0,05 n) verwendet wird. Ferner läßt sich die Methode beim Vorhandensein von Bromiden nicht anwenden, da auch diese oxydiert werden.

2. Man kann dieselbe Lösung, die zuerst der Permanganatoxydation unterzogen wurde, auf jodometrischem Wege analysieren, da Jodcyan in saurer Lösung auf Hyposulfit genau wie freies Jod reagiert, wobei ein Molekül Jodcyan zwei Atomen Jod entspricht.

3. Bei der Analyse größerer Jodidmengen verwendet man am besten 0,1 n Hyposulfit, aber bei der Bestimmung geringer Mengen ist 0,01 n Lösung am geeignetsten. Der Permanganatüberschuß nach der Oxydation läßt sich am besten durch einen kleinen Zusatz von Oxalsäure entfernen.

4. Es ist vorteilhaft, bei den Analysen nicht unnötig viel Cyankalium zuzusetzen, sondern ungefähr nur so viel, als zur Umwandlung des Jods in Jodcyan notwendig ist, wiewohl ein mehrfach so großes Quantum als das für die Analyse notwendige diese keineswegs unmöglich macht. Bei wohl bemessenem Cyanidzuschuß kann man den Reaktionsverlauf in seinen verschiedenen Phasen bei der Permanganatoxydation leicht

verfolgen und riskiert keine Übertitrierung der Probe. Mit Rücksicht auf die Hyposulfittitration werden die Umschläge, welche durch Stärkezusatz markiert werden, so am allerschärfsten. Ist die Jodidmenge gering und der Cyanidüberschuß groß, so verschärft man den Umschlag am besten bei der Hyposulfittitration mit Hilfe eines geringen Jodkaliumzusatzes.

5. Die Probe muß sauer genug sein, im allgemeinen reicht ein Zusatz von 10 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 : 10).

6. Auch wenn man beim Zusatz von Permanganat den Permanganatwert nicht berücksichtigt, muß man auf jeden Fall mit einer gewissen Vorsicht zu Werke gehen und darf weder zuviel Permanganat zusetzen noch darf das Permanganat momentan im Überschuß zugesetzt werden, denn dann wird die Probe zu Ende der Oxydation durch gefällte Mangansuperoxyde trübe; diese verursachen eine Säureaktivierung, die trotz der Oxalatreduktion einen ansehnlichen Mehrverbrauch an Hyposulfit verursacht. Der Überschuß muß in Form von unzerteiltem Permanganat vorhanden sein.

7. Vorhandene Bromide stören, weil sie die beginnende Permanganatoxydation verhindern. Ein Zusatz von Salicylsäure ermöglicht jedoch eine Jodidanalyse mittels Hyposulfittitration trotz der Anwesenheit großer Bromidmengen; das durch die Oxydation frei gewordene Brom wird reduziert, indem es im statu nascendi mit der Salicylsäure reagiert und Tribromsalicylsäure bildet.

8. Beide Analysenmethoden lassen sich sehr vorteilhaft zur Einstellung von Permanganat- und Hyposulfitlösungen verwenden, und diese Verfahren können an Genauigkeit und leichter Handhabung mit jedem anderen konkurrieren.

9. Bei Permanganateinstellung geht man entweder von einer direkt abgewogenen Substanz oder auch von 0,1 oder 0,05 n Jodkaliumlösungen aus. Zu 20 ccm 0,1 n Jodkaliumlösung (8,301 g pro Liter) gibt man 1 ccm 10proz. Cyankaliumlösung und 10 ccm verdünnter Schwefelsäure; verwendet man 0,05 n Jodkaliumlösung, so reichen 0,5 ccm Cyanidlösung.

10. Bei Hyposulfiteinstellung geht man von Jodkaliumlösungen mit Konzentrationen 0,1 n bis 0,01 n aus, je nach der ungefähren Stärke der Hyposulfitlösung, die eingestellt werden soll. Beim Ausgehen von stärkeren Jodkaliumlösungen verfährt man bei der beginnenden Permanganatoxydation des Jodkaliums gemäß dem soeben Mitgeteilten. Geht man von einer 0,01 n Jodkaliumlösung aus (0,8031 g pro Liter), so muß man der Probe 1 ccm einer nur 1 proz. Cyankaliumlösung zusetzen, während die Schwefelsäuremenge wie gewöhnlich sein kann. Der Umschlag bei der nach der Permanganatoxydation erfolgenden Hyposulfittitration ist jetzt vollkommen deutlich, läßt sich sonst

durch einen Zusatz von einigen Körnchen Jodkalium gegen Ende der Titration schärfen. Am besten verwendet man hier als Oxydationsflüssigkeit eine Permanganatlösung, die etwa 0,5 g Kaliumpermanganat im Liter enthält.

11. Das bei der Einstellung verwendete Jodkalium muß gut getrocknet (bei + 170° C) und rasch abgewogen werden, da es in gewissem, wiewohl geringem Maße hygroskopisch ist. Die Haltbarkeit der Jodkaliumlösungen ist unbegrenzt, falls sie alkalisch sind. Am besten gibt man 1 g NaOH zu 1 Liter Lösung.

12. Ein großer Vorteil, der die Anwendung der beiden neuen Methoden begleitet, besteht vor allem darin, daß man bei ein und derselben Probe zuerst das Permanganat und darauf das Hyposulfit einstellen kann. Der größte Vorteil liegt darin, daß das Verhältnis der beiden Lösungen zueinander vollständig richtig wird, während bei der Verwendung von anderen Einstellungsverfahren hier leicht Inkongruenzen auftreten können.

13. Bezüglich anderer Einstellungsmethoden der Hyposulfitlösung untersuchte ich die Bichromatmethode recht eingehend; es ergab sich deutlich, daß sie verschiedenen Nebenumständen gegenüber äußerst empfindlich ist und vollständig unrichtige Werte ergeben kann. Die nähere Natur dieser Störungen zu ermitteln, gelang mir bis jetzt noch nicht.

14. Die Bichromatmethode muß besonders mit Rücksicht auf die hydrobiologische Analyse, wo sie vielfach zur Verwendung gelangt ist, durch bessere Methoden ersetzt werden. Ich möchte in diesem Falle besonders die Jodkaliummethode empfehlen, wenn es sich um die Einstellung von 0,01 n Hyposulfitlösungen handelt.

Literatur.

Abegg, Handb. d. anorg. Chem. 1913. — *Alsterberg*, diese Zeitschr. **159**, 1925. — *Anderson* and *Smith*, Journ. of Soc. chem. Ind. **18**, 1899. — *Bruhn*, Journ. f. prakt. Chem. **93**, 1916; **95**, 1917. — *Jander* und *Beste*, Zeitschr. f. anorg. Chem. **133**, 1924. — *Kolthoff*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **59**, 1920. — *Lang*, Zeitschr. f. anorg. Chem. **122**, 1922; ebendaselbst **130**; ebendaselbst **142**, 1924; ebendaselbst **144**, 1925 a; Zeitschr. f. anal. Chem. **67**, 1925 b: ebendaselbst c (Ref. sämtlicher Abhandlungen). — *Mc Culloch*, Chem. News **57**, 1888. — *Meindl*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **58**, 1919. — *Meineke*, Zeitschr. f. anorg. Chem. **2**, 1893. — *v. Meyer*, Journ. f. prakt. Chem. **36**, 1887. — *Rideal* und *Stewart*, Analyst **26**, 1901 (ref. Chem. Centralbl. **1901**, II, S. 232). — *Schulek*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **62**, 1923. — *Sulman* and *Teed*, Journ. of Soc. chem. Ind. **16**, 1897. — *Thresh*, Journ. of chem. Soc. **57**, 1890. — *Volhard*, Ann. Chem. **198**, 1879. — *Wagner*, Zeitschr. f. anorg. Chem. **19**, 1899. — *S. W. Winkler*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **21**, 1888; Zeitschr. f. analyt. Chem. **53**, 1914. — *Zulkowsky*, Journ. f. prakt. Chem. **1**, 1868.

Untersuchungen über die Quellungsvorgänge bei hygroskopischen Bewegungen.

Von

S. Rywosch.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 17. September 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse über die hygroskopischen Bewegungen wird man von einer Abhandlung über diese Frage wohl kaum viel Neues erwarten können. *Steinbrinck*[1]), welcher seit 1873 auf diesem Gebiete ununterbrochen mit größtem Erfolge arbeitet, hat die ganze Frage gewissermaßen erschöpft. Von großer Bedeutung für die jetzt geltende Theorie — die „Konstruktionstheorie" — waren auch die Arbeiten von *Zimmermann*[2]). Es wäre auch überflüssig, wollte ich diese Theorie hier näher besprechen, denn sie ist in kurzer und klarer Fassung schon öfters dargestellt worden, besonders von *Steinbrinck* (1906).

Man begegnet aber bei den hygroskopischen Bewegungen auch solchen Erscheinungen, welche durch die Konstruktionstheorie nicht erklärt oder, richtiger gesagt, gar nicht berührt werden. Einige Vorgänge, welche ich zu beobachten Gelegenheit gehabt habe, sind zweifellos sehr zu beachten. So z. B. einiges im Verhalten der Elateren der *Equisetum*sporen und einiger Samenhäute, wie auch einige Reversibilitätserscheinungen, welche unter gewissen Bedingungen bei den *Leguminosen*hülsen auftreten Bevor wir zu unseren Beobachtungen übergehen, soll in ganz kurzen Worten etwas über das Untersuchungsmaterial und die Untersuchungsmethode sowie über die Begriffsbezeichnungen gesagt werden.

---

[1]) *C. Steinbrinck*, Dissertation Bonn 1873; Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1, 1883; ebendaselbst 21, 1913; Biol. Zentralbl. 26, 1906.

[2]) *A. Zimmermann*, Jahrb. f. wiss. Bot. 12, 1881.

Unser Untersuchungsmaterial, antagonistisch quellende Körper, müssen vom Gesichtspunkt der Quellungsforschung zu den sehr komplizierten Objekten gerechnet werden. Aus diesem Grunde eignen sie sich nicht, um aus ihrem Verhalten *zahlenmäßige Schlüsse* über Quellungskapazität usw. zu gewinnen. Da außerdem wir bei unseren Untersuchungen zumeist vorübergehende Quellungsstadien zu behandeln hatten, so ist es verständlich, daß wir nicht mit genau abgemessenen Wasserdampfspannungen [wie *Katz*[1]) oder *Walter*[2])] gearbeitet haben. Die Arbeit wäre bei diesem Verfahren nicht nur sehr erschwert, sondern in einigen Fällen die Beobachtung der schnell wechselnden labilen Zustände gar nicht möglich gewesen. Über die Begriffsbestimmungen ist folgendes vorauszuschicken. Im allgemeinen sind die Bezeichnungen, wie sie schon z. B. *Reinke*[3]) gebraucht hat, ohne weiteres verständlich. Als Quellungsmaximum gilt derjenige Quellungsgrad, über welchen hinaus der Körper kein Wasser mehr aufnimmt. Dieses Stadium werden wir häufig mit Sättigung bezeichnen. Quellungskapazität gibt die Menge des Wassers an, welche ein Körper im Quellungsmaximum aufzunehmen imstande ist. Als Quellungsgrad wird die Menge des aufgenommenen Wassers in einem beliebigen Stadium des Quellungsvorganges bezeichnet. Alle diese Quellungsstadien können oder müssen z. B. in den Arbeiten von *Reinke* und anderen mit Zahlen belegt werden. Wir aber können in unseren Untersuchungen aus den Krümmungsvorgängen wohl auf gewisse Quellungsstadien oder gewisse Quellungseigenschaften schließen, aber wir können sie nicht mit Sicherheit bestimmen, geschweige denn mit Zahlen belegen. Wir werden der Bequemlichkeit wegen oft statt Unterschied in der Quellungskapazität den einfachen Ausdruck Quellungsunterschied gebrauchen.

Herrn Prof. *L. Jost*, welcher mit mir diese Untersuchungen mit großem Interesse besprochen hat, danke ich aufrichtig. Herrn Geheimrat Prof. *M. Möbius* danke ich auch an dieser Stelle für das Interesse, welches er dieser Arbeit entgegenbrachte.

I.

Wir wollen unsere Betrachtungen mit den *Leguminosen*hülsen beginnen. Diese Organe besitzen bekanntlich eine besondere, etwa fünfreihige Zellschicht, Hart- oder Faserschicht genannt, in welcher die Krümmung vor sich geht. Und zwar beruht diese Krümmung auf der starken Quellungsfähigkeit der Membranen einiger Zellreihen der Hartschicht. Diese stark quellbaren Zellreihen liegen unter der inneren Epidermis der Hülse. Es sei noch daran erinnert, daß die biologisch so wichtigen Bewegungen auf *Wasserverlust* also auf *Entquellung* beruhen, und zwar in erster Reihe auf Entquellung derjenigen Zellagen der Hartschicht, welche der inneren Epidermis am nächsten gelegen

---

[1]) *I. R. Katz*, Kolloidchem. Beih. **9**, 1917/18.
[2]) *H. Walter*, Jahrb. f. wiss. Bot. **62**, 1923.
[3]) *H. Reinke*, Bot. Abhandl. (Hansteins) **4**, 1879.

sind. Die Konstruktionen, welche die schraubige Einrollung ermöglichen, sind, wie schon erwähnt, erschöpfend studiert worden.

Weniger beachtet wurde die Frage, wieweit das Eintreten der nötigen Krümmung bei den *Leguminosen* also die plötzlich eintretende schraubenförmige Einrollung der Hülsen vom jeweiligen Wassergehalt in diesen Organen abhängig ist. Wir wissen zwar, daß die frischen Hülsen, z. B. Ende Juni oder Anfang Juli, auch wenn sie durch einen Eingriff geöffnet werden, zunächst nur eine kaum merkliche Krümmung ausführen, dagegen die trockenen Hülsen im September beim Öffnen sich sofort schraubig zusammenrollen. Es würde, wie es mir scheint, nicht genügen, wollte man diesen Unterschied allein auf die Tatsache zurückführen, daß die Hülsen ihren endgültigen anatomischen Bau erst bei voller Reife erhalten. Denn, wenn man die Hülsen im Juli öffnet, so tritt zwar, wie schon erwähnt, zunächst so gut wie keine Krümmung ein. Allmählich aber krümmen sich die Hülsenhälften immer mehr und mehr, und schon nach 24 Stunden erreicht die schraubenförmige Einrollung dieser Hülsen einen Grad, wie ihn geöffnete Hülsen von Ende September auch nach wochenlangem Liegen nicht zeigen. Wir können uns also gut vorstellen, daß in erster Reihe der *hohe Wassergehalt des Organs* es ist, durch welchen die sofortige Krümmung verhindert wird.

Wieweit der allgemeine Wassergehalt der Hülsen die Krümmung beeinflussen kann, ergibt sich auch aus folgenden Versuchen. Öffnet man Anfang Juli die *Caragana*hülsen, indem man die beiden Hälften ganz voneinander trennt, und läßt sie längere Zeit eintrocknen, so geht die eingetretene Einrollung, wenn sie in Wasser gebracht werden, wie nicht anders zu erwarten ist, ganz zurück. Trocknet man diese nun gerade gestreckten Hülsenhälften mit Filtrierpapier ab und läßt sie von neuem eintrocknen, so rollen sie sich bald wieder ein, und nach 12 Stunden ist die Einrollung so weit fortgeschritten, daß die Ränder der benachbarten Schraubenglieder sich bereits berühren. Sie erreichen also ein Krümmungsstadium, welches die normale Einrollung der reifen Hülsen weit übertrifft. Durch folgende Behandlung der in Wasser gerade gewordenen Hülsenhälften kann man aber ihre Einrollung stark verlangsamen und herabsetzen. Wenn man ihre Außenepidermis nach Abtrocknung mit Filtrierpapier gründlich mit Vaselin bestreicht, so tritt zwar allmählich eine Einrollung ein, aber im Vergleich zu den unbestrichenen erst sehr spät. Während die Hülsenhälften ohne Vaselin, wie gesagt, schon nach etwa 12 Stunden einen Einrollungsgrad zeigen, welcher den bei den reifen Hülsen weit übertrifft, erreichen die bestrichenen auch in 48 Stunden höchstens nur eine Krümmung, wie sie beim Aufspringen oder einigem Trocknen der reifen Hülsen sich einstellt. Im ganzen läßt sich also sagen, daß durch die Bestreichung mit Vaselin die Einrollung verlangsamt und überhaupt herabgesetzt wird. Es liegt nahe, diese Verlangsamung der Einrollung darauf zurückzuführen, daß der Wasserverlust der Zellschichten der Innenseite teilweise aus dem unter dem Vaselin gelegenen Gewebe, welches nicht (oder wenig) verdunstet, ersetzt wird. Erst wenn der Wassergehalt der Hülse durch beständig anhaltenden Wasserverlust durch die innere Epidermis einen bestimmten

niedrigen Stand erreicht hat, tritt eine stärkere Krümmung zutage. Aus diesen Ausführungen ergibt sich eigentlich die ganz selbstverständliche und kaum neue Tatsache, daß bei reichem Wassergehalt der Hülsen eine ausgibige und rasche Einrollung kaum zu erwarten ist. Es schien mir aber von Interesse nachzuprüfen, wie sich bei den *Caragana*hülsen ein *zu niedriger Wassergehalt* auswirkt. Die betreffenden Versuche und Beobachtungen will ich in folgendem zusammenfassen.

Läßt man die *Anfang Juli* gesammelten Hülsen von *Caragana arborescens* längere Zeit, etwa 6 bis 8 Wochen, *ungeöffnet* liegen und austrocknen, so kann man folgendes feststellen. Die Wölbung der Hülsen hat stark abgenommen, so daß sie meist flach aussehen. Öffnet man solche Hülsen, so läßt sich kaum eine Krümmung feststellen. Aber auch, wenn man die getrennten Hälften solcher Hülsen liegen und weiter austrocknen läßt, kann man auch dann eine einigermaßen merkliche Krümmung so gut wie niemals beobachten. Es ist anzunehmen, daß der Quellungsgrad der ungeöffneten Julihülsen durch die lang andauernde Verdunstung, welcher sie nach dem Pflücken ausgesetzt waren, so gering ist, *und daß sie so wenig Wasser enthalten, daß eine merkliche Entquellung mit entsprechender Krümmung nicht eintreten kann*[1]. Daß diese Hülsen nicht etwa das Krümmungsvermögen eingebüßt haben, ergibt sich unter anderem aus folgendem. Öffnet man solche ausgetrocknete Julihülsen und bringt sie in Wasser, so nehmen sie wieder reichlich Wasser auf. (Die näheren Vorgänge der Wasseraufnahme werden im nächsten Abschnitt besprochen werden.) Bringt man sie aus dem Wasser und trocknet sie mit Filtrierpapier ab, so beginnt, wenn man sie in einem Zimmer von gewöhnlicher Temperatur und Feuchtigkeit frei liegen läßt, bald die Einrollung. Nach etwa 12 Stunden haben sie sich meist so weit eingerollt, daß die Schraubenglieder sich bereits berühren oder überdecken.

Daß die ausgetrockneten Julihülsen etwa zu hart und starr zur Ausführung der Krümmungen sind, ist von vornherein nicht anzunehmen, da sie sich mit der Hand z. B. noch immer leichter biegen lassen als die reifen Hülsen im Herbst. Das ergibt sich auch aus der folgenden Tatsache. Bringt man die trockenen Julihülsen, nachdem man sie geöffnet hat, in eine Temperatur von etwa 100°, so tritt schon in kurzer Zeit eine ansehnliche Krümmung ein.

II.

Die Vorgänge, welche man bei der Wiederaufquellung der *ungeöffnet eingetrockneten Julihülsen* beobachtet, verdienen ausführlicher be-

[1] Der relativ große Wasserverlust dieser Hülsen wird wohl zum großen Teile auf das Entwicklungsstadium der Hülse zurückzuführen sein, insofern, da gerade die äußere Epidermis noch einige Veränderungen von der angeführten Zeit bis zur völligen Reife der Hülsen erleidet.

sprochen zu werden. Öffnet man vorsichtig diese trockenen Hülsen und bringt man die getrennten Hülsenhälften in Wasser, so krümmen sie sich sehr bald. Schon nach 5 Minuten oder früher kann die Einrollung so weit fortgeschritten sein, daß die Schraubenglieder sich berühren. Bald aber setzt eine Abrollung ein, welche etwa 10 bis 15 Minuten dauern kann. Dann ist von der Einrollung nichts mehr zu sehen. Da wir die angeführte Krümmung selbstredend nur auf *Quellung durch Wasseraufnahme* zurückführen müssen, so überrascht es uns nicht, daß in diesem Falle die *Innenseite* es ist, welche zur *Konvexseite* wird, was an der Abb. 1 durch die Lage der Samen zu erkennen ist. Die Grundlage der Hülsenkrümmungen beruht ja nach allen früheren Untersuchungen auf der stärkeren Quellbarkeit der Innenseite! Und die in der Natur vorkommenden Krümmungen dieser Organe werden doch auf den Wasserverlust dieser stärker gequollenen Seite zurückgeführt. Aber die Möglichkeit, diese schöne Einrollung mit *konvexer Innenseite* zu erreichen, ist in mancher Beziehung für das Studium von hygroskopischen Bewegungen nicht ohne Wert. Denn erstens wird dadurch, daß die Krümmung am ganzen Organ, und zwar in *Wasser* wahrgenommen wird, die Tatsache der stärkeren Quellung der Innenseite noch deutlicher vor Augen geführt, als z. B. durch eine ähnliche konvexe Krümmung eines Querschnitts der Hülsen in Kalilösung, welche *Steinbrinck* schon 1873 erwähnt. Für unsere Untersuchungen ist aber von besonderem Werte, eine hygroskopische Krümmung zu verfolgen, bei welcher diejenige Seite konvex wird, welche die größere Quellungskapazität besitzt. Denn unsere Beobachtungen beziehen sich gerade auf solche Krümmungen. Ich will diese Krümmungen, welche darin bestehen, daß die Seite mit größerer Quellungskapazität konvex wird, z. B. wie das bei der Elaterenbewegung von *Equisetum*sporen der Fall ist, als die *positive* hygroskopische Krümmung bzw. *positive* hygroskopische Bewegung usw. bezeichnen. Dagegen könnte man vielleicht die Krümmungen, welche durch Wasserverlust des sonst quellungsfähigeren Teiles entstehen (z. B. die normale Einrollung der *Leguminosen*hülsen), als negative hygroskopische Krümmungen bezeichnen. Wir wollen uns über die Erscheinung der oben erwähnten Krümmung der trockenen Julihülsen und die gleich eintretende Geradestreckung in Wasser noch einiges klar zu machen versuchen. Was ist die Ursache,

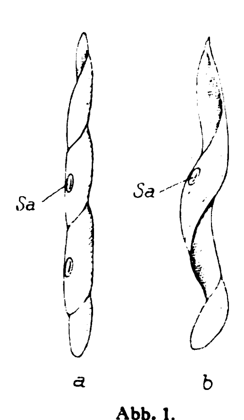


Abb. 1.
Hülsenhälften von Caragana arborescens (Julihülsen) in Wasser.
a) Maximale Einrollung.
b) Ein Stadium der Abrollung, nach welchem bald die Geradestreckung eintritt. Sa = Samen.

daß die Hülse, welche sich nach kurzer Zeit gerade streckt, vorher eine so starke Einrollung durchmacht? Um die Frage näher zu behandeln, müssen wir zunächst die Tatsache beachten, daß wir bei diesen Vorgängen *mit zwei ganz verschiedenen Quellungsstadien der Hülsen* zu tun haben.

Die Tatsache, daß die in Wasser gekrümmten Hülsen nach einem gewissen Verbleiben darin sich gerade strecken, weist darauf hin, daß bei maximaler Quellung oder Quellungssättigung, das ist, nachdem *alle Teile gewissermaßen das maximale Wasser aufgenommen haben, der Quellungsgrad irgend einer Zellgruppe der Caraganahülsen den der anderen nicht in so ergiebigem Maße übertrifft, daß daraus eine Krümmung resultieren könnte. Das ist also das Verhalten der Hülsen beim Quellungsmaximum in Wasser.*

Anders liegt die Sache zu der Zeit, wo die Quellung erst beginnt. Da kommt erst die stärkere Quellungskapazität der inneren Zone zur Geltung. Und das können wir uns nur so vorstellen, daß in ungesättigtem Quellungsstadium diese Zone jeweilig wasserreicher ist als die anderen Schichten. Wir haben also hier eine ungleichmäßige Wasserverteilung vor uns. Wir müssen aber auch annehmen, daß der Wassergehalt der verschiedenen Zonen nicht etwa nach ihrem Quellungsvermögen verteilt ist. Vielmehr deutet der Sachverhalt darauf hin, daß die stärker quellende Schicht im ungesättigten Quellungsstadium nicht nur absolut, sondern auch relativ wasserreicher ist als die schwächer quellende. Mit anderen Worten: *die stärker quellende Schicht (oder Schichten) ist in ungesättigtem Quellungsstadium nicht nur um so viel wasserreicher als die weniger quellende Schicht (oder Schichten), um wieviel ihr nach dem Unterschied der Quellungskapazität zufallen würde, sondern um einiges mehr.* Denn sonst müßte ja, wie wir es im Stadium der maximalen Quellung tatsächlich gesehen haben, keine Krümmung zustande kommen.

Ich will hier noch einen Versuch anführen, aus welchem hervorgeht, daß es sich hier tatsächlich um eine ungleiche Verteilung des Wassers innerhalb des Organs handelt, und die beschriebenen Vorgänge nicht dadurch zustande kommen, daß etwa dank einer besseren Durchlässigkeit der inneren Epidermis die darunter liegende Quellungsschicht in der Wasseraufnahme begünstigt ist. Bestreicht man nämlich die innere Epidermis gut mit Vaselin, schneidet dann aus der Hülsenhälfte Querstreifen von etwa 1 mm Breite und bringt sie in Wasser, so tritt nach einiger Zeit eine erhebliche Krümmung ein. Aber auch in diesem Falle ist es die Innenseite, welche konvex wird. *Also findet die für die stärker quellende Schicht günstige Wasserverteilung auch dann statt, wenn von der Innenseite aus die Wasseraufnahme verhindert oder auf*

jeden Fall erschwert wird[1]). Übrigens strecken sich auch diese Querstreifen nach einiger Zeit wieder gerade.

Die Elateren der *Equisetum*sporen bilden wohl das schönste und bekannteste Beispiel einer positiven hygroskopischen Bewegung. Bekanntlich handelt es sich bei diesem Vorgang darum, daß die bei gewöhnlicher Luftfeuchtigkeit geradegestreckten Bänder sich sofort einrollen, wenn die sie umgebende Luft, z. B. durch Anhauchen, sehr feucht wird. Die Einrollung der Bänder ist, wenn das Anhauchen in der Nähe des Objektträgers ausgeführt wird, maximal, so daß die Bänder der allermeisten Sporen sich fest an die Sporen anlegen. (Dieses Stadium der Einrollung dauert natürlich nur sehr kurze Zeit, denn sehr bald beginnt, weil wieder Wasser an die Luft abgegeben wird, bald bei der einen, bald bei der anderen Spore die Abrollung, und bald sind die meisten Sporen geradegestreckt. Um den wirklichen maximalen Krümmungszustand beobachten zu können, muß man nur möglichst schnell die Einrollung beobachten.)

Man hätte sicher annehmen können, daß, wenn die Sporen in Wasser gebracht werden, die Bänder sich maximal krümmen und mithin den Sporen fest und lückenlos anliegen würden. In Wirklichkeit ist das Ergebnis ein anderes. *Beobachtet man nämlich die Equisetumsporen in Wasser*, so läßt es sich leicht feststellen, *daß die allermeisten Bänder sich nicht in maximaler Krümmung befinden: die Einrollung ist lockerer und die Bänder liegen den Sporen weniger fest an, als das beim Anhauchen der Fall ist.*

Es empfiehlt sich, immer recht viele Sporen auf dem Objektträger zu haben, um eben das Verhalten einer sehr großen Mehrzahl von Elateren

[1]) Ich stütze mich hier auf den Versuch mit den schmalen Streifen, bei welchen die Innenseite mit Vaselin bestrichen wurde. In Wirklichkeit habe ich diese Versuche auch mit Hülsenhälften (Julihülsen) ausgeführt, bei welchen die innere Epidermis bestrichen war. Auch in diesem Falle rollten sich die Hülsen derart in Wasser, daß die bestrichene Innenseite stets konvex wurde. Durch einen Zufall blieb das ganze Hülsenmaterial für einige Wochen in einem sehr warmen und sehr trockenen Raume liegen. Mit diesem Material gelang nun kein einziger Versuch mehr mit den bestrichenen Hülsenhälften, auch nachdem sie für lange Zeit in die früheren Verhältnisse der Temperatur und Feuchtigkeit gebracht wurden. Nur mit den bestrichenen schmalen Streifen konnte noch die konvexe Krümmung der Innenseite erreicht werden. Wenn das Verhalten der Hülsen von der Wirkung der starken Austrocknung, wenigstens in diesem Versuche, beeinflußt zu sein scheint, so sucht man aber vergebens nach einer Erklärung dieser Tatsache. Aber an sich muß uns die Tatsache nicht allzusehr befremden. Denn sogar bei der Quellung von einfachen Stoffen kann der normale Quellungsverlauf nur dann mit Erfolg studiert werden, wenn die Hysteresis, welche eigentlich nichts anderes ist, als eine Störung durch eine Vorbehandlung, möglichst ausgeschaltet wird (vgl. *Katz*). Natürlich muß dann der Begriff der Hysteresis allgemeiner aufgefaßt werden.

beobachten zu können. Will man die Sporen in Wasser unter einem Deckglas beobachten, dann muß dafür gesorgt werden, daß sie nicht vom Deckglas gedrückt und die Bänder in ihrer Bewegung nicht behindert werden.

Wenn sich hier die Krümmung in gesättigtem (Wasser) und ungesättigtem Quellungsstadium (feuchte Luft) zwar nur graduell unterscheidet, so schließen sich diese Vorgänge doch an die Erscheinungen, welche wir in diesem Abschnitt bei den ausgetrockneten Julihülsen von *Caragana* kennengelernt haben. Auch bei den Sporenbändern scheint die positive Seite (die stärker quellende Seite) in ungesättigtem Stadium relativ mehr Wasser an sich zu reißen als die konkave Seite, und auf diese Weise die maximale Krümmung zu bewirken. Tritt aber die maximale Quellung ein, so findet eine Abrollung statt, wenn sie auch bei den Sporenbändern nur gering ist.

Das verschiedene Verhalten antagonistisch quellender Seiten in gesättigtem und ungesättigtem *Quellungsstadium* läßt sich an der Samenhaut vieler *Leguminosen* feststellen. Die Samenhaut der meisten *Leguminosen*, nach meiner Erfahrung nur mit Ausnahme der *Lupinus*-arten, rollt sich, wenn man sie in lufttrockenem Zustande von den Samen abzieht und in *Wasser* bringt, stark zusammen. Auch die Samenhaut der Orangensamen krümmt sich in gleicher Weise. Die Krümmung der Samenhäute erfolgt in der Weise, daß die Außenseite konvex und die Innenseite konkav wird. Zum näheren Studium der Quellungs- und Krümmungsverhältnisse bei den Samenhäuten habe ich besonders mit *Vicia faba* (große Sorte) und *Phaseolus multiflorus* (bunte Sorte) gearbeitet. Am besten lassen sich die Versuche ausführen mit schmalen Hautstreifen von etwa 1,0 bis 1,5 mm Breite. Diese Streifen werden durch Schnitte erhalten, welche senkrecht zur Längsachse quer über die ganze Samenbreite geführt werden. Bei *Vicia faba* erhält man solche Streifen schon deshalb leicht, weil die Samenhaut sich relativ leicht vom Samen ablösen läßt. Man verfährt dabei in folgender Weise:

Man schneidet zunächst an der schmalen Samenseite die Haut rundherum ab, dann trennt man die Kotyledonen voneinander und sucht die Haut vorsichtig abzuziehen. Die Querstreifen stellt man sich dann ohne Schwierigkeit her. Bei *Phaseolus* liegt die Haut den Samen, besonders wenn sie sehr trocken sind, sehr fest an. Um die nötigen Streifen zu erhalten, verfährt man am besten so, daß, nachdem man den Samen in die Kotyledonen zerlegt hat, man die Kotyledonen mit der Haut in nicht zu breite Stücke schneidet. Von diesen kleineren Stücken läßt sich die Haut leichter abziehen und die gewünschten Hautstreifen erhalten. Sowohl für *Vicia* wie für *Phaseolus* ist es zu empfehlen, vor dem Versuch die Hautstreifen an beiden Enden etwa um 1 mm zu kürzen, weil die Haut an dieser Stelle an Dicke und Festigkeit von der übrigen Haut etwas abweicht.

Bringt man solche etwa 1 bis 1,5 mm breite Hautstreifen in Wasser, so tritt bald eine starke Einrollung ein. Der höchste Krümmungsgrad

wird etwa in 5 Minuten erreicht. Nachdem die Krümmung ihr Maximum erreicht hat, was man daran erkennt, daß keine weitere Krümmung stattfindet, beginnt bald die Abrollung. Wenn man sich den höchsten Krümmungsgrad eines Hautstreifens genau merkt oder aufzeichnet und dann mit dem Krümmungsgrad, welcher nach etwa 20 Minuten eintritt, vergleicht, so läßt sich eine sehr erhebliche Abrollung feststellen (vgl. Abb. 2).

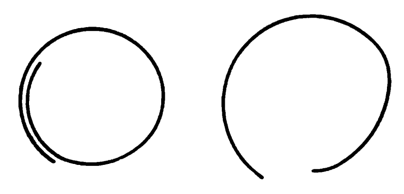


Abb. 2a. Abb. 2b.
Samenhautstreifen von Vicia faba in Wasser.
a) In maximaler Krümmung.
b) Nach längerem Liegen in Wasser, partiell abgerollt. Etwas vergrößert.

Bei *Phaseolus* läßt sich wegen der dunklen Färbung der Vorgang der Abrollung schön verfolgen, wenn man sich die Zeit nimmt, die maximal eingerollten Streifen längere Zeit hindurch, etwa 20 bis 30 Minuten, zu beobachten. Wie bei den Sporenbändern von *Equisetum* wird auch die Samenhaut von *Vicia* und *Phaseolus* auch bei längerem Verbleiben in Wasser nicht mehr gerade, ein großer Teil der Krümmung wird also behalten.

Das Wichtige für uns ist aber die Tatsache, daß die Einrollung bei längerem Verbleiben in Wasser beträchtlich zurückgeht.

Das Verhalten der Samenhäute in feuchter Luft erinnert in gewisser Beziehung an die *Equisetum*-Elateren und ist geeignet, die dort ausgesprochene Auffassung zu bestätigen. Zur Verwendung kamen Samenhautstreifen von *Vicia faba*, welche etwa 0,3 mm breit waren, die man sich ohne Schwierigkeit mit einer scharfen Schere herstellen kann. Man beschneidet noch vorher die Samenhaut an ihren Rändern, so daß die Hautstreifen nicht länger als etwa 10 bis 12 mm werden. Häufig krümmen sich die Streifen etwas beim Schneiden, aber diese Krümmung beeinflußt den Versuch eigentlich überhaupt nicht. Außerdem läßt sich diese Krümmung vorsichtig mit der Hand zum großen Teile beseitigen. Diese Streifen werden nun in eine mit Wasser gefüllte Glasschale [wie etwa bei den Versuchen von *Walter*[1])] gebracht. Am Boden dieser Schale ist ein Korken angeklebt, welcher über das Wasserniveau hinausragt. An dieses Korkenstück wird ein kleines Deckglas angeklebt. Auf dieses Deckglas legt man nun die Hautstreifen. Die Schale wird mit einem gut passenden Deckel geschlossen, und durch Vaselinverklebung wird dafür gesorgt, daß kein Wasserdampf nach außen gelangen kann. In der Schale können noch an den Wänden wassergetränkte Streifen von Filtrierpapier angebracht werden, welche mit ihrem einen Ende im Wasser eintauchen. Zwischen dem Deckel und den Streifen ist der Abstand etwa 3 bis 4 mm.

Bald beginnt der kleine Raum sich mit Wasserdampf zu sättigen, und die Hautstreifen sich zu krümmen. Nach einer längeren Zeit, bei meinen Versuchen meist nach 4 bis 5 Stunden, wird etwa das *Krümmungsmaximum* erreicht. Im Verlauf von mehreren Stunden kann man nun eine weitere Einrollung jedenfalls nicht mehr beobachten. Nimmt man solche in

[1]) *H. Walter*, Zeitschr. f. Bot. 16, 1924.

maximaler Krümmung sich befindlichen Streifen aus der Schale und bringt sie schnell in Wasser, so nimmt die Krümmung auch hier nicht etwa zu, sondern im Gegenteil, *sehr bald tritt auch hier die partielle Abrollung ein.* Es erübrigt sich, den Vorgang hier bildlich darzustellen, denn es wäre nur eine Wiederholung der Abb. 2; a) *würde die maximale Krümmung in gesättigter Luft* und b) *den Krümmungsgrad nach der Abrollung in Wasser* angeben.

Übrigens tritt auch in der wassergesättigten Luft, also in der Glasschale, wenn die Hautstreifen darin längere Zeit, etwa 10 bis 15 Stunden, verbleiben, eine merkliche Abrollung ein.

Ich will hier noch das Verhalten der *Vicia*samenhaut in Kochsalzlösungen von etwa 20 bis 25 Proz. anführen. Lufttrockene Samenhäute quellen in solchen Lösungen schnell und ergiebig, was durch Wägung leicht festzustellen ist. Bringt man die erwähnten, etwa 0,3 mm breiten Samenhautstreifen in eine solche Lösung, so rollen sie sich stark ein und behalten diesen Krümmungsgrad, wenn sie auch einige Stunden in der Lösung verbleiben. Bringt man den stark eingerollten Streifen aus der Salzlösung in Wasser, so rollt er sich in kurzer Zeit beträchtlich ab. Der Krümmungsgrad in der Lösung entspricht etwa Abb. 2a, derjenige im Wasser Abb. 2b.

Das eigentliche Ergebnis dieser Versuche kann dahin zusammengefaßt werden, daß die *maximale Krümmung bei positiv hygroskopischen Bewegungen nicht mit dem maximalen Quellungsgrad zusammenfällt, sondern zu einer Zeit eines ungesättigten Quellungsstadiums eintritt*, und in diesem Punkte stimmen die Vorgänge bei den trockenen Julihülsen von *Caragana arborescens* mit den Sporen von *Equisetum* und Samenhäuten prinzipiell überein.

Es bleibt noch einiges über die Wasseraufnahme durch die Samenhaut zu bemerken. Es ist auch hier zu prüfen, ob nicht die Krümmung in der ersten Quellungsperiode etwa durch eine bevorzugte Wasseraufnahme durch die Samenaußenhaut beeinflußt wird. Der anatomische Bau würde ja schon an sich eher dagegen sprechen, denn die Außenseite ist von einer Epidermis mit einer Kutikula begrenzt. Aber auch durch den Versuch läßt es sich nachweisen, daß eine ungleichmäßige Wasserverteilung zugunsten der Außenseite, wenn sie mit dem Wasser nicht direkt in Berührung kommt, stattfindet. So krümmen sich 1,5 bis 2 mm breite Samenhautstreifen von *Vicia*, wenn man nur *die Innenseite allein vorsichtig mit Wasser benetzt*, positiv, d. h. die *unbenetzte Außenseite wird konvex*. Bei *Phaseolus* kann zwar bei der Benetzung *der Innenseite diese* zunächst konvex werden, aber bald strecken sich die Streifen wieder gerade und *bald darauf auch hier die Außenseite konvex.*

Zum Schluß möchte ich noch darauf hinweisen, daß die Einrollung der Samenhaut nicht immer in *einer Ebene* geschieht, sie krümmen sich vielmehr häufig schraubenartig. Jedenfalls tritt die schraubenartige Krümmung nicht immer stark zutage. Natürlich wählt man zu näheren Studien Stücke, die sich mehr oder weniger in einer Ebene gekrümmt haben.

III.

Aus den Beobachtungen des vorigen Kapitels hat sich ergeben, daß wir aus dem Grade einer maximalen hygroskopischen Krümmung keinen Schluß ziehen können, wie groß der Unterschied in der Quellungskapazität der antagonistischen Seiten ist. Es zeigte sich auch, daß der eigentliche *Quellungsunterschied*, welchen wir nur bei der maximalen Sättigung richtig beurteilen können, *kleiner ist*, als er uns bei der *maximalen Krümmung scheinen könnte*. Dabei haben wir gesehen, daß bei ausgetrockneten *Caragana*hülsen von Anfang Juli nach der Einrollung in Wasser (mit konvexer Innenseite) nach einiger Zeit eine Geradestreckung eintritt. Wir hätten es also hier mit einem nur sehr geringen Quellungsunterschied zu tun, welcher nur in ungesättigtem Stadium zu einer Krümmung führt. Vielleicht könnte man aus der Tatsache, daß die innere Seite der Samenhaut von *Phaseolus*, wenn sie allein benetzt wird, für eine gewisse Zeit konvex wird, gleichfalls schließen, daß der Quellungsunterschied auch hier nicht sehr groß ist. Wenigstens aber ergibt sich auch aus dieser Tatsache, daß auch die Innenseite ansehnlich quellen kann.

Diese Erfahrungen und einige Überlegungen veranlaßten mich zu folgender Fragestellung. Ob nicht auch die Krümmung, welche sich bei maximaler Quellung feststellen läßt, zu groß ist im Verhältnis zum Quellungsunterschied beider Seiten, und mithin uns einen größeren Quellungsunterschied, als er wirklich vorliegt, vortäuscht. Theoretisch schien diese Frage nicht nur nicht unberechtigt, sondern sogar begründet. Wir brauchen nur ein Grundgesetz der Quellung, nach welchem der Druck die Quellung herabsetzt, d. h. die Geschwindigkeit und das Maximum der Wasseraufnahme vermindert, auf unsere Versuchsobjekte anzuwenden (vgl. z. B. *Reinke*, S. 131, unter 16). Quillt aber ein Körper, bei welchem durch die Konstruktion sich eine Lage ergibt, daß ein Teil des Körpers während der Quellung unter Druck eines anderen Teiles des Körpers steht, so ist die Quellung dieser Teile verschieden. Ich will hier ein Beispiel dieser Art, welches *Freundlich*[1]) in seiner Kapillarchemie nach *Schwarz* anführt, mitteilen. „Einen so regelmäßigen Verlauf der Quellung kann man aber nur erwarten, wenn das quellende Plättchen recht dünn ist. Bei einer dickeren Platte quillt zunächst die äußere Schicht stark an, während die inneren Teile noch wenig verändert sind. Das Quellen der äußeren Schicht beeinflußt aber das Quellen der inneren Teile dank der Druckwirkung, die sie ausübt, und so kommt es, daß der Verlauf der Quellung stark und in keiner sehr einfachen Form von der Dicke der quellenden Schicht abhängt.“ Nun liegt aber bei den positiven Krümmungen unserer

---

[1]) *H. Freundlich*, Kapillarchemie 1922, S. 510 bis 511.

Untersuchungsobjekte gerade ein typischer Fall, wo ein Teil des Körpers von dem anderen bei der Quellung beeinflußt wird, vor. Es handelt sich hier um folgende Vorgänge. Sobald eine gewisse Wasseraufnahme stattgefunden hat, setzt eine Krümmung des Körpers ein. Wir haben gesehen, daß im Verlauf der ersten Quellungsperiode die positive Seite in der Wasseraufnahme begünstigt ist, was zunächst zu einer ergiebigen Krümmung führt. Aber diese starke Krümmung führt zu einer weiteren Verwicklung des Quellungsvorgangs, da die stark aktive konvexe Seite die konkave Seite unter Druck hält. Dieses hat natürlich zur Folge, daß die konkave Seite im Quellen stark behindert wird. Das Endresultat hängt zum großen Teil davon ab, wie groß der Quellungsunterschied beider Seiten ist, aber auch von anderen Umständen. So konnten sich z. B. die positiv gekrümmten *Caragana*hülsen bei der Sättigung wieder geradestrecken, während die Sporenbänder und die Samenhaut nur eine teilweise Abrollung erreichen. Diese Ausführungen allein würden vielleicht nicht ausreichen, um uns von der Beeinflussung des Druckes, unter welchem die konkave Seite steht, zu überzeugen. Aber wir haben die Möglichkeit, die Richtigkeit dieser Voraussetzungen durch das Experiment zu prüfen.

Die Anordnung der Versuche beruht auf folgenden Voraussetzungen. Wenn tatsächlich die erste Krümmung in der ersten Quellungsperiode die weitere Krümmung im Verlauf des Prozesses beeinflußt, so konnte man erwarten, daß, wenn man die *ersten Krümmungen durch Zwang verhindert*, die weiteren Krümmungen geringer ausfallen werden als unter normalen Quellungsverhältnissen. Die Versuche wurden zunächst mit den *Caragana*hülsen, welche im Juli gesammelt und dann lange Zeit liegen gelassen wurden, deren positive hygroskopische Krümmung wir schon ausführlich behandelt haben, ausgeführt. Besonders aber wurde das Verhalten der Samenhäute studiert. *Es galt, wie schon ausgeführt, diese Versuchsobjekte Wasser aufnehmen zu lassen, ohne daß zunächst eine Krümmung ausgeführt werden konnte.* Zu diesem Zwecke genügte es, die Hülsenhälften von *Caragana* in Wasser zu bringen, aber nicht frei liegen zu lassen. Ich hielt, um eine Krümmung zu verhindern, die Hülsen an jedem Ende mit Daumen und Zeigefinger fest. Man vermeidet aber dabei, auf die Hülse zu drücken. Man muß nämlich die ganze Zeit darauf achten, daß das Wasser doch überall wenigstens zeitweise mit der Hülsenhälfte in Berührung bleibt. Auch muß darauf geachtet werden, daß der Abstand zwischen den Fingern beider Hände nicht zu groß wird, so daß nicht etwa das Stück zwischen beiden Enden zu lang wird. Diese Versuche sind schon bei geringer Erfahrung leicht auszuführen. Etwa 5 bis 7 Minuten des Versuchs genügen, um folgendes Ergebnis zu erhalten. Läßt man nämlich nach dieser Zeit die Hülse wieder frei im Wasser liegen, so tritt keine Krümmung mehr ein.

Wir können aus diesem Versuch zunächst schließen, daß, wenn die Krümmung zur Zeit des *ungesättigten* Quellungsstadiums verhindert wird, sie später gar nicht mehr eintritt, wenn auch die Hindernisse zur Krümmung beseitigt sind. Aber dieser Versuch mit den Hülsen ist nicht eindeutig. Denn wir können nicht sicher sein, aus welchem Grunde die spätere Krümmung unterbleibt. Es ist zwar wahrscheinlich, daß die fehlende erste Krümmung von einer gewissen Bedeutung für das Ausbleiben der späteren Krümmung ist, aber auch eine andere Ursache beeinflußt das weitere Verhalten der Hülse in hohem Grade. Es ist nämlich ohne weiteres anzunehmen, daß beim Verbleiben der Hülsen in Wasser die Dauer von 5 bis 7 Minuten ausreicht, einen gewissen Grad der Quellung zu erreichen, bei welchem, wie wir im vorigen Kapitel gesehen haben, die Abrollung bereits beginnt und bald der geradgestreckte Zustand eintritt. Die Tatsache, daß wir hier nur *ein* Endresultat — die Geradestreckung — haben, erschwert uns also, wie wir eben bemerkt haben, einen eindeutigen Schluß aus dem Versuchsergebnis zu ziehen. Viel günstiger liegen die Versuchsverhältnisse bei der Samenhaut.

Wir führen die Versuche wieder mit den im vorigen Abschnitt näher beschriebenen Querstreifen der Samenhaut von *Vicia* oder *Phaseolus* aus. Hält man einen solchen Hautstreifen, z. B. von *Vicia faba*, etwa 5 Minuten lang in Wasser in der gleichen Weise wie die eben angeführten *Caragana*hülsen zwischen den Fingern und läßt ihn darauf frei in Wasser liegen, so läßt sich eine nur sehr geringe Krümmung feststellen. Der Krümmungsgrad tritt aber in diesem Falle *weit hinter demjenigen* zurück, wie die Stücke sonst nach der Abrollung zu erreichen pflegen. Das Ergebnis ist hier also insofern eindeutig, als eben nicht eine relativ starke Krümmung, wie sie bei der Quellungssättigung nach der Abrollung erreicht wird, eintritt, sondern die Krümmung ist so gering, daß sie in vielen Fällen dem geradegestreckten Zustande gleichgestellt werden kann[1]). Das Studium an der Samenhaut von *Vicia* z. B. ist noch in mancher Beziehung interessant. Es zeigt sich nämlich, daß der jeweilige Grad der Krümmung sehr stark davon abhängt,

---

[1]) Wenn man in der gleichen Weise die Krümmung von Samenstreifen von der *weißen* Sorte von *Phaseolus multiflorus* in der Einrollung verhindert, so drehen sie sich in der Richtung der kurzen Achse des Streifens zusammen, weil diese Häute eine starke Quellung auch senkrecht zu der von uns behandelten Einrollung haben. Wenn aber die Streifen sich frei einrollen können, kommt die Krümmung senkrecht zur kurzen Achse nicht zustande. *Steinbrinck* hat auf die Möglichkeit einer Krümmungsverstärkung nach einer Richtung hin, wenn die Krümmung in der anderen Richtung herabgesetzt wird, für die *Leguminosen*hülsen bereits hingewiesen (1913).

wie lange die Zwangslage im Wasser dauert (vgl. Abb. 3). Die Krümmung, welche nach 3 Minuten z. B. eintritt, ist bereits viel schwächer als bei der Dauer von 1½ Minuten. Den Quellungsvorgang in der Samenhaut kann man auch auf folgende Weise beobachten. Man läßt *Vicia-faba*-Samen in Wasser etwa 36 Stunden quellen und mithin etwa das Quellungsmaximum erreichen. Zieht man diesen Samen die Haut ab und schneidet sich wieder die bekannten Querstreifen zurecht, so zeigen diese Stücke im Wasser so gut wie keine Krümmung mehr.

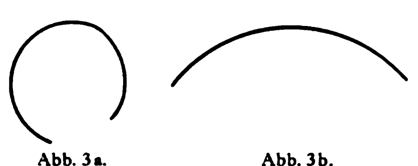


Abb. 3a. Abb. 3b.
Samenhautstreifen von Vicia faba in Wasser.
a) Etwa 2 Minuten.
b) Etwa 5 Minuten lang in der Krümmung verhindert. Etwas vergrößert.

Ich will hier noch bemerken, daß weder die Hülsen, noch die Samenhaut durch die erwähnten Versuche etwa an ihrem Krümmungsvermögen einbüßen. Die Hülsen, mit welchen wir diesen Versuch ausgeführt haben, krümmen sich beim Eintrocknen gerade so wie solche, die in Wasser frei gelegen haben. Auch die Samenhautstücke krümmten sich unter gewissen Bedingungen (vgl. den nächsten Abschnitt) in gleicher Weise, ob die Stücke frei im Wasser sich einrollen konnten oder durch den Versuch im Wasser gerade geblieben waren. Als Ergebnis unserer Versuche können wir annehmen, *daß die zuerst eintretende Krümmung den weiteren Verlauf der Quellung der konkaven Seite herabsetzt und mithin die Krümmung des positiv hygroskopischen Organs stark beeinflußt.* Wir können ohne Schwierigkeit annehmen, daß, wenn wir mit den Sporenbändern solche Versuche ausführen könnten, wir wahrscheinlich auch ähnliche Resultate erhalten würden.

IV.

Die positiv hygroskopische Krümmung bildet einen Vorgang, den man sich leicht vorstellen kann. Wenn nämlich die eine Seite durch Volumenvergrößerung (Quellung) wächst, aber durch Verwachsung mit dem anderen, weniger quellbaren Teil in seiner geradlinigen Ausdehnung verhindert wird, so entsteht die bekannte Krümmung. Damit aber *eine ausgiebige Krümmung zustande kommt*, müssen zwei Vorbedingungen erfüllt sein: 1. daß die Volumenzunahme der positiven Seite eine gewisse, dazu nötige Größe erreicht, und 2. daß *der Unterschied* der aufgenommenen Wassermenge der positiven und der schwächer quellenden Seite groß genug ist, daß eine Krümmung zustande kommt. An den Sporenbändern von *Equisetum* läßt sich diese Tatsache gut demonstrieren. Die Bänder bleiben bekanntlich in einem normal feuchten Zimmer geradegestreckt. Aber da jede Cellulose auch bei gewöhnlicher Luftfeuchtigkeit mehrere Prozent Wasser enthält, d. h.

gegenüber völliger Austrocknung sich in einem gewissen Quellungsstadium befindet, so sind in diesem Sinne die Sporenbänder auch bei normaler Luftfeuchtigkeit in einem gewissen Grade gequollen, und zwar enthält die positive Seite mehr Wasser als die schwächer quellende Seite. Aber weder der Wassergehalt der positiven Seite noch der Wassergehaltsunterschied beider Seiten reichen zu einer Einrollung aus. Erst bei einem sehr hohen Wassergehalt der Luft kommt es zu der bekannten Einrollung. Ändert sich dieser hohe Wassergehalt in den Bändern durch Wasserabgabe an die Luft, welche trockener geworden ist, so beginnt die Abrollung, welche in den meisten Fällen zur Geradestreckung der Bänder führt. Bekanntlich kann man dieses Ein- und Abrollen der Sporenbänder beliebig wiederholen.

Aus den Vorgängen bei den Sporenbändern könnte man leicht zu der Annahme gelangen, daß erstens eine *ergiebige hygroskopische Krümmung überhaupt erst bei sehr hohem Wassergehalt* der Umgebung stattfindet, und zweitens, daß *solche Krümmungen immer reversibel sind.* Die Vorstellung, daß eine hygroskopische Bewegung reversibel sein muß, ist so geläufig, daß die Reversibilität als Beweis für den Quellungsvorgang der Krümmungen angeführt wird. Aus den Erfahrungen, welche wir in den vorigen Kapiteln gemacht haben, ist leicht einzusehen, daß auch die eben aufgeworfenen Fragen noch eingehend studiert werden müssen, um mehr oder weniger eindeutig beantwortet zu werden. Ich will zunächst die Versuche über die Reversibilität behandeln.

Die Versuche wurden mit den schon oft erwähnten Hautstreifen von *Vicia* und *Phaseolus*samen ausgeführt. Man bringt zunächst einen etwa 1,2 mm breiten Samenhautstreifen, z. B. von *Vicia*, ins Wasser. Bald erfolgt die Einrollung und nach einiger Zeit die partielle Abrollung. In diesem Stadium, d. h. in etwa maximal gequollenem Zustande, nimmt man das Stück heraus, trocknet die Außen- und Innenseite leicht mit Filtrierpapier ab und läßt den Streifen frei im Zimmer liegen und austrocknen. Aber trotz eintretenden Wasserverlusts wartet man vergebens auf eine Geradestreckung des Hautstreifens. Weder tritt diese ein, noch findet auch irgend eine Abrollung statt. Ganz auffallenderweise *nimmt der Vorgang gerade einen umgekehrten Verlauf, die Einrollung der Hautstücke nimmt nämlich beim Austrocknen stark zu.* Der endlich erreichte Grad der Einrollung ist nicht nur viel stärker, als er beim Herausholen aus dem Wasser war, sondern übertrifft noch bedeutend den maximalen Krümmungsgrad im Wasser. Übrigens beginnt die weitere Einrollung zu einer Zeit, wo die Samenhaut noch sehr wasserhaltig ist, was aus dem Aussehen und der Geschmeidigkeit der Streifen ohne Schwierigkeit zu ersehen ist. Auch solche Hautstreifen, welche durch die im vorigen Abschnitt besprochene Verhinderung der

Anfangskrümmung in Wasser sehr schwach gekrümmt blieben, rollten sich beim Austrocknen gleichfalls stark ein.

Die zweite Frage, ob ein sehr hoher Wassergehalt der Luft zur Ausführung einer positiven Krümmung eine notwendige Bedingung ist, läßt sich wiederum an den Samenhäuten feststellen. Läßt man nämlich Streifen, welche man aus der lufttrockenen Samenhaut gleich nach Abzug vom Samen von *Vicia faba* z. B. hergestellt hat, in einem normal trockenen Zimmer von normaler Temperatur und Feuchtigkeit liegen, so setzt schon nach kurzer Zeit eine Krümmung ein. Nach 2 bis 3 Stunden hat die Krümmung etwa ihr Maximum erreicht. Gewöhnlich krümmen sich die Stücke derart, daß sie etwa einen halben Kreis bis drei Viertel eines Kreises bilden, und zwar wird auch hier die Außenseite konvex. Die Frage, ob es sich in diesem Falle um einen Wasserverlust oder um eine Wasseraufnahme handelt, läßt sich durch Wägung leicht feststellen. Und zwar haben die ausgeführten Wägungen ganz eindeutig ergeben, daß es sich zweifellos *um eine Wasseraufnahme aus der Luft, also um eine Quellung handelt.* Aber die aufgenommene Wassermenge ist so gering, nämlich 5 bis 6 Proz. des lufttrockenen Hautgewichts, daß man gewissermaßen überrascht ist, daß durch diese geringe Quellung eine so gut ausgesprochene Krümmung zustande kommt. Auch diese Krümmung ist nicht reversibel. Trocknet man nämlich die gekrümmten Stücke bei einer Temperatur von etwa 100 bis 110°, so verlieren sie nicht nur die erwähnten 5 bis 6 Proz. Wasser, sondern sie geben noch außerdem mehrere Prozent Wasser ab. Das ist verständlich, da die lufttrockenen Samenhäute etwa 10 Proz. Wasser enthalten. Bei dieser Wasserabgabe erfolgt nun keine Geradestreckung, sondern die Krümmung nimmt noch zu.

Wie können wir uns nun die geschilderten Vorgänge erklären? Wie kommt bei der so geringen Wasseraufnahme die starke Krümmung zustande? Wir dürfen außerdem nicht vergessen, daß bei der Wasseraufnahme von 5 bis 6 Proz. wir bereits die maximale Krümmung vor uns haben. Aber die erste Krümmung beginnt hier eigentlich sehr bald nachdem man die Haut vom Samen abzieht, so daß die Krümmung noch durch eine geringere Wasseraufnahme eingeleitet wird. Die größte Schwierigkeit ergibt sich erst aus unserer Erfahrung, daß der Unterschied der Quellungskapazität beider Seiten nicht sehr groß ist, was die Versuche mit der verhinderten Anfangskrümmung gezeigt haben. Also, wenn das aufgenommene Wasser (5 bis 6 Proz.) sich nach der Quellungskapazität beider Seiten verteilen würde, so wäre der zu erwartende Wasserüberschuß der positiven Seite so gering, daß wohl kaum eine stärkere Krümmung eintreten könnte.

Die Beantwortung der aufgeworfenen Fragen erleichtert sich wesentlich, wenn wir unsere Erfahrungen aus dem zweiten Abschnitt

auf die eben besprochenen Vorgänge anwenden wollen. Wir haben dort festgestellt, daß die Wasserverteilung in ungesättigtem Quellungsstadium nicht einfach nach der Quellungskapazität der antagonistischen Seite, sondern unter Bevorzugung der stärker quellenden Seite erfolgt. Von diesem Gesichtspunkt aus ist die Bildung einer Krümmung leicht zu verstehen. Da nämlich das Wasser vorzüglich in der stärker quellenden Schicht der Samenhaut sich ansammelt, so folgt daraus, daß die Seite mit der größeren Quellungskapazität *bedeutend* mehr vom aufgenommenen Wasser bekommt als die konkave Seite. Unter diesen Umständen ist schon eine ausgiebige Krümmung eher zu erwarten. Kurz, *die ganz ungleichmäßige Verteilung des Wassers bei nicht maximalem Quellungsstadium mit besonderer Bevorzugung der Seite mit der größeren Quellungskapazität ist die Grundlage zur Einleitung der Krümmung.* Es ist außerdem nicht unwahrscheinlich, daß nach Einleitung der ersten Krümmung die weitere Krümmung auch hier durch die Tatsache begünstigt wird, daß die konkave Seite gleich unter Druck der aktiv sich krümmenden Konvexseite steht. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die konvexe Seite auch etwas von dem *alten Wasser der Konkavseite,* d. h. von dem Wasser, welches in der Haut der lufttrockenen Samen normalerweise vorhanden ist, aufnimmt. (Die Konkavseite steht ja unter Druck!)

Aber auch die Tatsache, *daß eingerollte, wassergetränkte Streifen bei Wasserverlust sich nicht geradestrecken, ist das Ergebnis der ausgeführten ganz ungleichmäßigen Wasserverteilung.* Nach unseren diesbezüglichen Erfahrungen wickelt sich der Übergang zum ungesättigten Quellungsstadium in folgender Weise ab. Sobald der wassergetränkte, etwa maximal gequollene Hautstreifen einen Teil des Wassers verliert und in den ungesättigten Zustand übergeht, so verteilt sich sehr bald das Wasser in der Samenhaut derart, daß die positive Seite beträchtlich wasserreicher wird als die konkave Seite. Wir können auch annehmen, daß dieser Unterschiedsgrad im Wassergehalt beider Seiten nicht allein durch die angeführte ganz ungleichmäßige Wasserverteilung erreicht wird, sondern auch durch die Tatsache, daß die konkave Seite unter Druck steht, noch zunimmt.

Auf Grund unserer Beobachtungen und Ausführungen können wir das Ergebnis dieses Abschnitts folgenderweise zusammenfassen: 1. *Zur Bildung einer positiv hygroskopischen Krümmung ist nicht immer eine sehr hohe Luftfeuchtigkeit erforderlich.* 2. *Die positiv hygroskopischen Krümmungen sind nicht immer reversibel, und die Reversibilität ist mithin kein notwendiges Glied in dem Vorgang der Quellung und Entquellung von Organen, welche sich hygroskopisch krümmen.*

Es sind noch einige Fragen, welche mit den Ergebnissen dieses Abschnittes in engem Zusammenhang stehen, zu erörtern. So entsteht

z. B. die Frage, warum die *Equisetum*elateren beim Austrocknen sich wieder geradestrecken, während die Samenhaut sich noch stärker einrollt. Diese Frage, welche bei jeder Behandlung des Stoffes zu stellen wäre, läßt sich von unserem Gesichtspunkte aus ganz gut erklären. Es genügt vielleicht die Annahme, daß der Quellungsunterschied zwischen der positiven und der konkaven Seite bei der Samenhaut einerseits und derjenige bei den Sporenbändern andererseits verschieden ist, um einzusehen, daß dementsprechend auch die Krümmungsverhältnisse andere sein können oder sogar sein müssen.

Daß solche Unterschiede wirklich existieren, ist zwar ohne weiteres anzunehmen. Aber es ist von Interesse zu beweisen, daß sogar Membranen, bei welchen wir sehr ähnliche, ja eigentlich ganz gleiche physikalisch-chemische Eigenschaften voraussetzen müssen, sich bei den Quellungsvorgängen und speziell bei der hygroskopischen Krümmung verschieden verhalten können. Unsere diesbezüglichen Beobachtungen beziehen sich auf die Sporenbänder von *Equisetum*. Die Quellungszustände, welche uns hier beschäftigen, bilden Zwischenstufen zwischen dem ganz eingerollten und dem geradegestreckten Zustande. Solche Zwischenformen mit entsprechender Krümmung kann man häufig beobachten. Erstens z. B. schon, wenn die eingerollten Bänder sich abzurollen beginnen. Die Abrollung geht gewöhnlich in der Weise vor sich, daß man mehrere Stufen der Krümmung beobachten kann. Solche Krümmungszustände, d. h. Stadien von unvollständiger Einrollung, lassen sich auch beobachten, wenn man vom Mikroskop aus die Sporen frei auf einem Objektträger beobachtet und ganz vorsichtig atmet, aber nicht anhaucht. Die Sporenbänder zeigen dann im gewissen Sinne eine Unruhe, denn bald krümmen sie sich teilweise, bald strecken sie sich wieder gerade. Bei allen diesen Krümmungen fällt es auf, daß beide Bänder derselben Spore sich verschieden stark krümmen. So finden wir häufig, daß, während das eine Band stark gekrümmt ist, das zweite noch mehr oder weniger gerade erscheint (vgl. Abb. 4). Ähnliche Bilder kann man auch unter anderem bei Anwendung von verschieden gesättigten Lösungen usw. erhalten. Wenn wir hier gewissermaßen bei ein und demselben Membranstück (denn beide Ränder sind ja Teile der gleichen Exine) einen merklichen Quellungs- und Krümmungsunterschied feststellen können, so wird uns das verschiedene Verhalten von den Samenhäuten und den Sporenbändern nicht befremden. Aus den angeführten Beobachtungen an den Sporenbändern ergibt sich unter anderem auch, daß zu ihrer *Krümmung nicht etwa eine gesättigte Luft oder eine Luftfeuchtigkeit, welche nahe der Sättigung liegt,* erforderlich ist. Erst zu der vollen Einrollung bedarf es einer besonders hohen Luftfeuchtigkeit (Abb. 4).

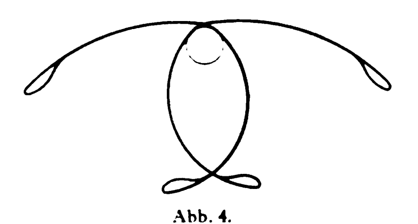


Abb. 4.
Equisetumspore. Die beiden Elaterenbänder sind verschieden stark gekrümmt. Vergrößert.

Die biologische Bedeutung der Reversibilität der Sporenbänder ist ja hinlänglich bekannt, um hier besonders hervorgehoben zu werden. Aber auch die Tatsache, daß die beiden Bänder von verschiedener Quellbarkeit sind, ist biologisch nicht ohne Bedeutung. Bei einer schnellen gleichzeitigen Einrollung könnten sich die Bänder leicht ineinander verwickeln. *Aber*

durch die verschiedene Quellungsfähigkeit wickelt sich jedes Band einzeln ein, und so wird die normale Ein- und Abrollung ermöglicht. Bei dem schnellen Vorgang entzieht sich natürlich diese Tatsache unserer Beobachtung.

V.

Die Beeinflussung, wie z. B. die Volumenveränderung der menschlichen Haupthaare durch Quellung, ist genügend bekannt, auf dieser Eigenschaft der Haare beruht bekanntermaßen die Funktion des Haarhygrometers. Es schien mir von Interesse, solche Haupthaare, welche bei der Quellung die Eigenschaft haben, sich zu krümmen, anschließend an die hygroskopischen Pflanzenorgane zu untersuchen. Die hellbraunen Haare mit leichter Neigung zur Lockenbildung wurden einem 14½ jährigen Knaben entnommen. Da die Haupthaare in der Kräuselung voneinander häufig verschieden sind und außerdem das einzelne Haar nicht gleichmäßig gelockt ist, so kann man ohne Schwierigkeit immer solche Haare finden, welche die zur Untersuchung gewünschte Krümmung zeigen. Bevor die Haare oder eigentlich die Haarstücke untersucht wurden, wurden sie mit käuflichem Benzin abgewaschen, mit Filtrierpapier abgetrocknet und ganz kurze Zeit frei liegengelassen, damit das Benzin verdunstet.

Bringt man Haarstücke von etwa 4 cm Länge, welche nur ganz schwach gekrümmt sind und einen ganz flachen Bogen darstellen, in Wasser, so tritt keine auffallende Veränderung ein. In den allermeisten Fällen verstärkt sich die vorhandene Krümmung nur ganz wenig, so daß die freien Enden sich nur etwas einander nähern. Aus dem Wasser gebracht und mit Filtrierpapier abgetrocknet geht die Krümmung der Haarstücke auf das frühere Maß zurück, was sich leicht beobachten und auch durch Messungen feststellen läßt.

Anders verhalten sich die Haarstücke, welche stärker gekrümmt sind. Von diesen wählte ich zu meinen Versuchen solche Haarstücke, welche bei einer Länge von 4 bis 5 cm etwas mehr als einen halben Kreis bildeten. Diese, wenn auch gut ausgesuchten Haarstücke, sind nur sehr ähnlich, nicht aber absolut gleich gekrümmt. Es ist auch verständlich, daß nicht alle Stücke sich ganz gleich, wenigstens quantitativ, bei der Quellung verhalten. Aber die Haupterscheinungen verlaufen nach meinen Erfahrungen stets in der gleichen Weise. Bringt man ein solches Haarstück in Wasser, so setzt sehr bald eine weitere Krümmung ein. Nach einigen Minuten ist die Krümmung so weit, daß die freien Enden sich bereits berühren. Nur sehr selten bleibt es bei dieser Berührung, allgemein aber geht die Krümmung beträchtlich weiter, so daß die Enden sich mehr oder weniger weit übereinander schlagen. Ist nun die maximale Krümmung erreicht, so tritt bald eine teilweise Abrollung ein. Hebt man die Haarstücke in diesem Quellungsstadium aus dem Wasser, trocknet sie mit Filtrierpapier ab und läßt sie frei das Wasser verdunsten, so kehren sie nicht etwa zur ihrer ursprünglichen Krümmung zurück, sondern *die Krümmung nimmt an der Luft noch beträchtlich zu.* Zurück in Wasser gebracht, geht die Krümmung etwa auf dasjenige Maß, wie es bei Herausnahme aus dem Wasser bestand, zurück.

Bei meiner ungenügenden Kenntnis des Untersuchungsobjektes und der Literatur über die Haupthaare muß ich meine Angaben auf diese wenigen Zeilen beschränken. Aber ich glaube, daß diese Angaben genügen, um uns die Ähnlichkeit der Quellungsvorgänge bei den hygroskopischen Bewegungen der besprochenen Pflanzenteile mit den menschlichen Haaren

zu zeigen. Die Vorgänge bei den Haupthaaren verlaufen übrigens meist in sehr kurzer Zeit und in ganz instruktiver Weise, weshalb sie sich zur Wahrnehmung von hygroskopischen Krümmungen gut eignen.

VI.

Auch an der Samenhaut von *Lupinus* lassen sich einige Beobachtungen machen, welche zu unseren Ausführungen in Beziehung stehen. Zum Studium dieser Samenhaut schneiden wir uns wieder in bekannter Weise parallel zur Raphe und senkrecht zum Nabel etwa 1,2 mm breite Streifen z. B. von *Lupinus albus* zurecht. Bringt man solche Streifen in Wasser, so rollen sie sich nicht zusammen, worauf übrigens schon früher hingewiesen wurde. Meist aber nimmt man eine nur ganz geringe, aber etwas eigenartige Krümmung wahr. Die *ganz schwache* Krümmung erstreckt sich nicht über die ganze Länge des Streifens gleichmäßig, und zwar findet diese schwache Krümmung an beiden Enden unabhängig voneinander statt. Da aber diese Krümmungszone an den Enden recht lang ist, so bleibt zwischen den beiden flach gekrümmten Flügeln eine nicht sehr breite ungekrümmte Zone übrig. Diese geringe Krümmung geht bei weiterem Verbleiben in Wasser mehr oder weniger vollständig zurück. Bringen wir aber die Hautstreifen statt in reines Wasser in eine 15proz. Lösung von Kalihydrat, so tritt bald eine ansehnliche Einrollung ein. Wir haben hier also einen Fall von positiv hygroskopischer Krümmung vor uns, wo Wasser, als solches dargeboten, nicht ausreicht, um eine ergiebige Krümmung zu veranlassen. Auf dieses Verhalten werden wir bald zurückkommen. Zunächst wollen wir aber die erwähnte Krümmung noch etwas näher behandeln. Die starke Einrollung in der Kalihydratlösung ist, wenigstens in einem gewissen Grade, reversibel. Bringt man nämlich solche Stücke, welche mehrere Stunden in der Lösung gelegen haben, aus dieser in reines Wasser, schwenkt sie einigemal in demselben und läßt sie darin liegen, so beginnt schon bald, weniger als in 15 Minuten, eine Abrollung. Nach mehreren Stunden nimmt die Abrollung merklich zu. Aber es bleibt noch immer eine ansehnliche Krümmung zurück. Die Tatsache, daß die Samenhaut nach der Quellung in Kalihydrat noch eine merkliche Krümmung in Wasser weiter behält, ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß im eingerollten Zustande die Quellungskapazität der unter Druck stehenden konkaven Seite geringer wird, also eine uns schon hinlänglich bekannte Erscheinung. Bemerkenswert ist es aber, daß, wenn man diese Hautstücke aus dem Wasser nimmt, sie leicht abtrocknet und an der Luft liegen läßt, die Krümmung zunächst auch hier zunimmt, was mit dem Verhalten von *Vicia* z. B. übereinstimmt. Aber sehr bald zeigt sich die Verschiedenheit dieser Samenhäute, denn bei der *Lupinus*samenhaut geht diese Krümmung zurück. Und zwar geht diese Abrollung so weit zurück,

daß die Krümmung weit geringer wird, als sie zuvor im Wasser war (es ist natürlich nicht zu vergessen, daß wir es mit Streifen zu tun haben, welche bereits zuvor in der KOH-Lösung sich gekrümmt hatten). Diese Tatsache befremdet uns eigentlich nicht sehr, bei reifer Überlegung hätte man solches vielleicht von vornherein erwarten können. Denn da die Streifen, ins Wasser gebracht, sich nur ganz schwach krümmen, *obgleich die Lupinussamenhaut in Wasser stark quellbar ist*, so kann man daraus mit Sicherheit schließen, *daß der Quellungsunterschied beider Seiten nur gering ist.* Daraus ergibt sich aber, daß die *besondere Wasseransammlung in der positiven Seite auch in ungesättigtem Quellungsstadium* im Gegensatz zu *Vicia* z. B. *nur sehr gering sein kann*, und mithin findet hier beim Austrocknen keine stärkere bleibende Krümmung statt. Die anfangs eintretende, aber bald zurückgehende Verstärkung der Krümmung an der Luft wird wahrscheinlich durch die zunächst wohl stärkere Wasserabgabe der unteren Seite erfolgt sein, was übrigens auch bei anderen Häuten, wie z. B. bei *Vicia faba*, auch der Fall sein kann. Aber bei *Vicia* kommt noch, wie schon erwähnt, der größere Quellungsunterschied beider Seiten in Betracht, so daß die Krümmung verstärkt wird und bleibend ist.

Wenden wir uns nun der Frage über das Verhalten der Samenhaut von *Lupinus* in Wasser bzw. in KOH-Lösung zu. Das verschiedene Verhalten zu diesen beiden Flüssigkeiten bringt uns eigentlich prinzipiell nichts Neues. Denn ebenso wie z. B. die *Equisetum*sporenbänder bei einer schwachen Quellung etwa in Zimmerluft sich nicht so verhalten wie in Wasser, so liegen die Verhältnisse auch hier: von der *Stärke der Quellung hängt nicht nur der Grad der Krümmung, sondern überhaupt auch das Zustandekommen der Krümmung ab.* Aber da *die absolute Quellung der Lupinussamenhaut in Wasser sehr groß ist*, so kann man die fast ausbleibende Krümmung in Wasser nur auf den sehr geringen Quellungsunterschied beider Seiten zurückführen. Aber eine *stärkere Krümmung findet bei dieser Samenhaut erst statt, wenn die absolute Quellung in diesem Falle durch den Zusatz von KOH zum Wasser noch erhöht wird.* Ich will hier an einem Beispiel diese eigentlich ganz einfachen Vorgänge zu erläutern versuchen. Lassen wir zunächst einen 12 mm langen Hautstreifen von *Lupinus* in Wasser quellen und nehmen wir an, daß die positive Seite sich um 25 Proz. dabei verlängere, während die schwächer quellende Seite sich um 22 Proz. verlängere (dieser Quellungsunterschied liegt dem tatsächlichen Unterschied jedenfalls mehr oder weniger nahe). Die positive Seite würde durch die Quellung in Wasser also 15 mm lang geworden sein, während die andere Seite 14,64 mm lang wird. Quillt aber das gleiche Stück in einer starken Kalihydratlösung z. B. doppelt so stark, so erhalten wir ganz andere Zahlen, die positive Seite wird 18 mm lang, die andere Seite 17,28 mm

lang. Es kommt für diese Krümmungen weniger das Verhältnis beider Seiten in Betracht, als darauf an, um *wieviel die positive Seite länger ist als die andere Seite.* Aber in dieser Beziehung reichen die in unserem Beispiel angeführten Zahlen zur Erklärung der beschriebenen Vorgänge aus. In Wasser war die positive Seite um 0,36 mm, in KOH-Lösung dagegen um 0,72 mm länger als die andere Seite. Das sind für die in Betracht kommenden Krümmungen schon Unterschiede von großer Wirkung. Es sei übrigens noch erwähnt, daß das angeführte Beispiel nur ganz oberflächlich die Frage beleuchtet, denn um genau die Verhältnisse zu erforschen, müßten eingehende Messungen mit besonderer Berücksichtigung der Dickenzunahme des Streifens ausgeführt werden. [Näheres über die Abhängigkeit der Krümmungen von der Länge und Dicke der Streifen bei *Bütschli*[1])].

Wir erfahren aber aus dem angeführten Beispiel die einfache und eigentlich selbstverständliche Tatsache, *daß mit der Zunahme der absoluten Quellung auch der Längenunterschied beider Seiten eines antagonistisch quellenden Körpers zunehmen muß.*

Ganz allgemein läßt sich also sagen: 1. Ein absolut schwach gequollener Körper krümmt sich nur, wenn der Quellungsunterschied beider Seiten entsprechend groß ist. 2. Ist aber der Quellungsunterschied beider Seiten gering, so kann doch eine stärkere Krümmung eintreten, wenn eine *entsprechend hohe absolute Quellung vorliegt.*

VII.

Schon vor langer Zeit hat *Steinbrinck* die hygroskopischen Bewegungen, die einfachen wie auch die komplizierten, wie sie z. B. von den *Leguminosen*hülsen ausgeführt werden, in einfacher und leicht verständlicher Weise an der Hand von Papierstreifen zu demonstrieren gesucht. Auch *Jost* beschreibt ausführlich das Verhalten von Papierstreifen bei der Entquellung. Die Tatsache, welche uns ermöglicht, an gewissen Papierstreifen die sonst etwas komplizierten Verhältnisse der hygroskopischen Krümmungen zu verstehen, ist bekanntlich folgende. Das Quellungsvermögen des Schreibpapiers ist verschieden nach beiden Hauptrichtungen; am schwächsten quillt das Papier in der Richtung der Linie, am stärksten senkrecht zu derselben. (Man muß hier unter „Linie“ die *Schreiblinie* verstehen. Denn auch unliniertes und kariertes Papier quillt immer am stärksten senkrecht zur Linie.) Die Angaben von *Jost*[2]) und von *Steinbrinck*[3]) beziehen sich auf Krümmungen, welche bei Wasserverlust eintreten, also eigentlich Beispiele für die Entquellung darstellen. Ich wollte hier aber an der Hand der Papierstreifen die positiven Krümmungen, d. h. solche, bei welchen die Krümmung infolge der Wasseraufnahme eintritt, demonstrieren.

---

[1]) *O. Bütschli*, Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss., Mathem.-naturw. Kl., Heidelberg 1915.

[2]) *Benecke-Jost*, Pflanzenphysiologie, 1924.

[3]) *C. Steinbrinck*, Biol. Zentralbl. 26, 1906.

Wenn wir Papierstreifen in Wasser bringen, so tritt keine Krümmung ein, denn es steht kein Hindernis im Wege, welches seine Volumenzunahme nach irgend einer Richtung stören würde. Und es bleibt sich dabei ganz gleich, in welcher Richtung der Streifen aus dem Papierbogen herausgeschnitten wird. Anders ist es, wenn wir den Papierstreifen so präparieren, daß die eine Seite des Streifens in normaler Weise Wasser aufnimmt, während die andere Seite kaum etwas vom Wasser aufnehmen kann. Einen solchen Zustand erreicht man leicht, indem man die eine Seite des Papiers mit Vaselin bestreicht. Dieses Verfahren zur einseitigen Verhinderung der Wasseraufnahme bzw. Quellung hat *Spek*[1]) schon früher angewandt. Bringt man Papierstreifen von etwa 8 cm Länge und 8 mm Breite, *welche nur einerseits leicht mit Vaselin bestrichen sind, in Wasser*, so verhalten sie sich, wie aus den *Steinbrinck*schen Versuchen zu erwarten ist, je nachdem wie sie aus dem Bogen geschnitten sind, verschieden. Diejenigen Streifen, deren Längsachse mit den Linien des Papiers zusammenfällt, zeigen keine Krümmung. Diejenigen Stücke aber, deren *Längsachse senkrecht zu den Linien verläuft, rollen sich in Wasser sehr bald ein.* Dabei bildet natürlich die fettfreie Papierfläche die konvexe Seite, die bestrichene Seite dagegen, welche als Wiederlage dient, wird passiv konkav gekrümmt. *Schneidet man aber die Papierstreifen schief zu den Linien, etwa unter 45°*, und bestreicht sie dann einseitig mit Vaselin, *so erhalten wir in Wasser eine schraubenförmige Einrollung*, etwa wie bei den normalen *Leguminosen*hülsen. Übrigens ist noch zu erwähnen, daß beim weiteren Verbleiben der eingerollten Papierstreifen in Wasser die Einrollung allmählich zurückgeht, und zwar findet die Abrollung der in einer Ebene eingerollten Streifen im allgemeinen früher und vollständiger als der schraubenartig gedrehten Stücke statt.

Ich habe hier das Verhalten der Papierstreifen aus mehreren Gründen angeführt. Zunächst weil ich darauf hinweisen wollte, daß man durch die Beobachtungen an diesen Papierstreifen auch die *positiv* hygroskopischen Krümmungen demonstrieren kann. Das erleichtert, wie ich glaube, das Verständnis dieser Vorgänge insofern, als man hier zur Erklärung der Vorgänge *von der Quellung* (Volumenzunahme) ausgehen kann und an einer Krümmung, welche tatsächlich auf *Volumenzunahme* beruht, demonstrieren kann. Die Papierstreifen krümmen sich in sehr kurzer Zeit und sehr ergiebig, was die Beobachtung und Demonstration sehr erleichtert.

---

[1]) *J. Spek*, Kolloidchem. Beih. 9, 1917/18.

Über die Beziehungen zwischen dem vegetativen Nervensystem und den Elektrolyten K, Ca des Serums.

Von

S. Leites.

[Aus der Abteilung für pathologische Physiologie des Staatlichen Psychoneurologischen Instituts zu Charkow (Ukraine).]

(Eingegangen am 21. September 1925.)

Durch eine Reihe von Untersuchungen der letzten Zeit wurde festgestellt, daß der Charakter der Reaktion des viszeralen Nervensystems auf das eine oder andere spezifische Reizmittel hin von der elektrolytischen Zusammenstellung jenes Milieus abhängt, in welchem das Reizmittel seine Wirkung äußert.

Diese Rolle der Elektrolyten im Mechanismus der Reaktion des viszeralen Nervensystems, die besonders klar in den Versuchen an isolierten Organen hervortritt [*Kolm* und *Pick*[1]), *Kraus*[2]), *S. Zondek*[3]), *S. Leites*[4]) u. a.], zeigt sich auch am intakten lebenden Organismus, und zwar sowohl am gesunden [*S. Leites*[5])], als auch — und hier noch ausdrucksvoller — bei jenen pathologischen Zuständen, bei welchen eine Störung des elektrolytischen Gleichgewichtes stattgefunden hatte [*Alpern* und *Lewantowsky*[6]), *E. Kylin*[7])]. Wenn die Elektrolyten einerseits als einer der Faktoren erscheinen, die den Charakter der Reaktionsfähigkeit des vegetativen Nervensystems bestimmen, so bedingt andererseits das letztere, wie aus den Arbeiten von *D. Alpern*[8]) bezüglich der Speichelsekretion zu ersehen ist, die Menge der Elektrolyten und ihre Wechselbeziehungen. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand darin, aufzuklären, ob das vegetative Nervensystem auf den Elektrolytenbestand des Serums Einfluß hat, und für den Fall, daß ein solcher Einfluß besteht, festzustellen, welche Wechselbeziehungen zwischen seinem Vagus- und Sympathicusanteil und diesem oder jenem Elektrolyten des Serums bestehen.

---

[1]) *Kolm* und *Pick*, Pflügers Arch. **184**, **189**, **190**.
[2]) *Kraus*, Med. Klinik, Nr. 48, 1922.
[3]) *S. Zondek*, diese Zeitschr. **121**, 132.
[4]) *S. Leites*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **44**, H. 3/4.
[5]) *Derselbe*, ebendaselbst **45**, H. 5/6.
[6]) *Alpern* und *Lewantowsky*, ebendaselbst **45**, H. 5/6.
[7]) *E. Kylin*, Klin. Wochenschr. Nr. 26, 28, 1924.
[8]) *D. Alpern*, Pflügers Arch. 1925.

In einer früheren Arbeit zeigte ich[1]), daß eine Reizung des sympathischen Systems bzw. das verhältnismäßige Übergewicht desselben, das durch pharmakologische Agenzien, elektrischen Reiz und Durchschneidung des Vagus am Halse (bei Kaninchen) hervorgerufen wurde, eine Erhöhung des Ca-Spiegels im Gesamtblut nach sich zieht. Zugleich aber erhebt sich natürlich die Frage bezüglich des physiologischen Antagonisten des Calciums bzw. des Kaliums: geht die Veränderung des Ca-Spiegels mit der Veränderung der K-Menge Hand in Hand und, gesetzt, daß dies der Fall ist, in welchem Zusammenhang steht sie dann mit diesem oder jenem Anteil des vegetativen Nervensystems.

Zwecks teilweiser Ausschaltung des einen oder anderen Abteiles des viszeralen Nervensystems durchschnitten wir die entsprechenden Nervenstämme oder entfernten wir die Nervengeflechte. Als Versuchstiere dienten Hunde. Die Durchschneidung des Vagus wurde sowohl einseitig als auch doppelseitig vorgenommen. Bei der einseitigen Vagusdurchschneidung erfolgte seine Durchtrennung am Halse in der Höhe des fünften Trachealknorpels, bei der beiderseitigen wurde die Durchtrennung der NN. vagorum unterhalb des Diaphragmas vorgenommen; mit Rücksicht darauf, daß der N. vagus beim Durchtritt durch das Foramen oesophageum diaphragmatis nicht selten Zweigchen abgibt, wurde außer der Durchschneidung der Hauptnervenstämme stets eine perioesophageale Neurektomie (unter Diaphragma) vorgenommen. Zwecks teilweiser Ausschaltung des sympathischen Systems wurde der plexus solaris exstirpiert und der Splanchnicus durchtrennt. Die Ca-Bestimmung des Serums erfolgte nach einer etwas modifizierten Methode von *de Waard* (statt 1 ccm Serum wurden 2,5 ccm genommen, Vermehrung der Menge der Reaktive); K wurde nach der Methode von *Kramer* bestimmt.

Die Untersuchungen lieferten uns folgende Resultate:

Tabelle I.

Hund Nr. 3, Gewicht 5,720 kg.

Datum 1924	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$	Anmerkung
23. V.	22,72	12,50	1,81	Norm
25. V.	22,365	12,00	1,86	
14. VI.	21,30	12,50	1,70	
17. VI.	21,17	14,50	1,46	14. VI. ist der rechte N. Vagus am Halse durchgetrennt.
20. VI.	20,75	14,00	1,46	
23. VI.	22,72	15,20	1,49	
25. VI.	19,17	12,80	1,49	

[1]) *S. Leites*, Acta medica, III, 1924. Charkow (russisch).

Tabelle II.

Hund Nr. 2, Gewicht 5,460 kg.

Datum 1924	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
19. IV.	24,30	12,00	2,02
24. IV.	23,075	12,00	1,92

17. V. 1924 wurden beide N. vagi unterhalb des Diaphragmas durchgetrennt.

Datum	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
18. V.		18,00	
26. V.		15,60	
2. VI.		14,00	
6. VI.		12,50	
8. VIII.		10,00	
13. VIII.		10,25	
25. VIII.		10,25	
12. XII.		18,08	
14. XII.		18,08	
17. XII.	36,92	16,00	2,30
22. XII.	37,63	14,80	1,54
1925			
1. I.	33,015	14,80	2,23
15. I.	33,015	16,00	2,62

Datum 1925	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
10. II.	27,69	15,00	1,80
17. II.	27,69	12,00	2,30
21. II	34,79	11,20	3,10
8. III.	22,72	12,00	1,87
15. III.	23,075	11,20	2,06
17. III.	23,33	11,04	2,11
6. IV.	24,08	10,08	2,38
8. IV.	26,625	10,80	2,46

9. IV. 1925 N. vagus (rechter) am Halse durchgetrennt.

Datum	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
12. IV.	16,885	7,36	2,29
17. IV.	15,975	7,60	2,10
21. IV.	21,30	9,60	2,21
27. IV.	22,43	10,00	2,24
30. IV.	17,04	8,80	1,93
6. V.	16,685	10,00	1,66
8. V.	16,685	10,00	1,66
12. V.	15,620	6,80	2,35
2. VIII.	17,685	8,00	2,21

Tabelle III.

Hund Nr. 4, Gewicht 6,180 kg.

Datum 1924	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
27. XI.	26,98	12,00	2,24
2. XII.	25,162	11,36	2,21
5. XII.	25,162	12,00	2,08

17. XII. 1924 wurden beide N. vagi unterhalb des Diaphragmas durchgetrennt.

Datum 1925	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
12. I.	25,162	15,00	1,67
18. I.	30,53	15,20	2,00
24. I.	31,24	16,00	1,95
8. II.	23,785	14,40	1,65
14. II.	25,56	12,80	2,00
19. II.	25,56	16,00	1,59
24. II.	23,075	14,00	1,64
3. III.	20,59	13,40	1,53

Datum 1925	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
8. III.	22,72	12,00	1,89
19. III.	19,17	10,40	1,84
8. IV.	22,72	12,40	1,83

9. IV. 1925 N. vagus (linker) am Halse durchgetrennt.

Datum	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
13. IV.	17,04	8,00	2,13
16. IV.	22,72	10,40	2,18
22. IV.	26,88	9,20	2,92
30. IV.	22,01	9,60	2,29
5. V.	22,72	9,60	2,35

6. V. 1925 wurde Pl. solaris exstirpiert und N. splanchnicus minor durchgetrennt.

Datum	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
9. V.	23,785	8,80	2,70
14. V.	22,72	12,00	1,87

Tabelle IV.

Hund Nr. 5, Gewicht 5,100 kg.

Datum 1924	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
20. XII.	23,43	11,60	2,01
31. XII.	23,43	10,40	2,25
1925			
7. I.	22,578	11,60	1,94
17. I. 1925 wurden beide N. vagi unterhalb des Diaphragmas durchgetrennt.			
1. II.	27,69	15,20	1,82
8. II.	23,43	15,20	1,54
12. II.	23,43	16,00	1,46
19. II.	24,88	15,20	1,63
24. II.	24,495	11,60	2,11
27. II.	18,17	13,60	1,33

Datum 1925	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
3. III.	19,88	13,60	1,46
21. III.	22,578	11,20	2,01
11. IV.	22,33	10,28	2,17
16. IV.	22 01	11,20	1,96
21. IV. 1925 N. vagus (rechter) am Halse durchgetrennt.			
23. IV.	18,886	10,40	1,81
25. IV.	27,69	12,80	2,17
28. IV.	26,98	10,40	2,59
4. V.	18,886	7,20	2,62
7. V.	18,875	10,40	1,81
12. V.	15,62	9,20	1,69
16. V.	15,265	7,60	2,00
6. VI.	23,714	9,60	2,46

Tabelle V.

Hund Nr. 6, Gewicht 5,920 kg.

Datum 1925	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
15. IV.	20,04	11,20	1,78
22. IV.	21,88	12,00	1,82
25. IV. 1925 wurde Pl. solaris exstirpiert und N. splanchnicus durchgetrennt.			
27. IV.	13,49·	11,20	1,20
29. IV.	26,625	10.40	2,56
2. V.	19,525	8,80	2,21

Datum 1925	K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	$\frac{K}{Ca}$
7. V.	13,845	7,60	1,82
9. V.	18,715	6,40	2,92
11. V.	20,874	7,60	2,74
13. V.	13,779	7,60	1,81
13. V. 1925 N. vagus (linker) am Halse durchgetrennt.			
14. V.	21,00	8,80	2,42
16. V.	16,33	8,40	1,94
18. V.	19,19	8,80	2,18

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, zeigt der Ca- und K-Gehalt des Serums, der in der Norm durch seine Konstanz ausgezeichnet ist, jedesmal Schwankungen, wenn das vegetative Nervensystem an irgend einer Stelle eine Unterbrechung erfährt, wenn der eine oder andere Abschnitt von ihm ausgeschaltet wird, sei es, daß der Vagus am Halse oder unterhalb des Diaphragmas durchschnitten wird, sei es, daß das Sonnengeflecht exstirpiert und der N. splanchnicus durchtrennt wird.

Welcher Art sind nun die Schwankungen des K- und Ca-Gehalts bei Störungen des Gleichgewichts im vegetativen System, und welches Band besteht zwischen diesen Änderungen und diesem oder jenem Abteil des vegetativen Systems? Betrachten wir zunächst das Verhalten von Ca. Wir sehen, daß Durchschneidung des Vagus sowohl am Halse als auch unterhalb des Diaphragmas eine Vermehrung des

Ca-Gehaltes des Serums zur Folge hat. Während aber bei der Durchschneidung des Vagus am Halse (Tabelle I) diese Vermehrung nur von kurzer Dauer ist und schon am 11. Tage nach der Operation die Rückkehr zur Norm beobachtet wird, ist sie bei der subdiaphragmalen Durchschneidung von weit längerer Dauer (beim Hunde Nr. 4 2½ Monate, beim Hunde Nr. 5 1 Monat), kehrt aber früher oder später gleichwohl zur Norm zurück. Die Norm des Ca-Gehaltes, die nach Verlauf einer bestimmten Zeit nach der Vagusdurchschneidung wiederum erreicht wird, unterscheidet sich aber von dem Ca-Gehalt eines gesunden Tieres dadurch, daß sie nicht von jenem konstanten Charakter ist, wie es dem normalen Tiere zukommt: der Ca-Gehalt ist außerordentlich labil und macht Sprünge sowohl gegen die Seite der Vermehrung wie gegen die Verminderung hin. Besonders charakteristisch ist in dieser Beziehung Hund Nr. 2 (Tabelle II), den wir im Verlaufe von mehr als einem Jahre systematisch untersuchten: Nach der ersten Periode der Ca-Vermehrung wird Rückkehr zur Norm beobachtet, dann folgt abermals ein Anstieg und wiederum ein Abfall zur Norm mit vereinzelten Momenten einer Ca-Verminderung.

Wir können somit feststellen, daß die teilweise Ausschaltung des Vagussystems eine Vermehrung des Ca-Gehaltes des Serums auf eine bestimmte Zeit hin zur Folge hat. Umgekehrt, bei teilweiser Ausschaltung des sympathischen Systems, wie es beim Hunde Nr. 6 (Tabelle V) der Fall war, kommt es zu einer beträchtlichen Verminderung des Ca-Gehaltes. Womit ist nun diese Veränderung des Ca-Gehaltes in Verbindung zu setzen, mit der Funktion des Vagus oder Sympathicus? Um diese Frage zu beantworten, wurde einem Hunde mit entferntem Pl. solaris und durchschnittenem Splanchnicus der Vagus am Halse durchtrennt; wie aus der Tabelle V zu ersehen ist, führt diese Durchschneidung den Ca-Gehalt nicht zur Norm zurück. Bei teilweise ausgeschaltetem Vagus dagegen (Hund Nr. 4, Tabelle III) führt die Exstirpation des Pl. solaris und die Durchtrennung des Splanchnicus zu einer Rückkehr des Ca-Gehaltes zur Norm. Wir müssen also annehmen, daß der Ca-Gehalt des Serums mit der Funktion des sympathischen und nicht des vagalen Anteils des viszeralen Nervensystems in Verbindung steht.

Wenn sich bezüglich des Ca-Gehaltes des Serums eine gewisse Gesetzmäßigkeit seiner Schwankungen mit der Ausschaltung des einen oder anderen Abteiles des vegetativen Nervensystems feststellen läßt, so kann dies vom Kalium nicht behauptet werden. Wir können bloß eine ganz außerordentliche Unbeständigkeit des K-Gehaltes nach den Durchschneidungen konstatieren, die besonders ausgeprägt ist nach Entfernung des Pl. solaris (Hund Nr. 6, Tabelle V), wo die Schwankungen des K-Gehaltes 100 Proz. erreichen. Nur bei Gegenüberstellung

dieser K-Schwankungen mit den parallelen Veränderungen des Ca-Gehaltes, mit Rücksicht auf ihre Bedeutung zwecks Feststellung des Koeffizienten K/Ca, läßt sich eine bestimmte Gesetzmäßigkeit in den Schwankungen des K-Gehaltes nach erfolgter Durchschneidung der Nerven feststellen. Aus den Tabellen können wir ersehen, daß nach doppelseitiger Vagusdurchschneidung unterhalb des Diaphragmas in der Periode der Vermehrung des Ca-Gehaltes gleichzeitig auch der K-Gehalt sich erhöht; beim Absinken des Ca-Gehaltes nach Exstirpation des Sonnengeflechtes wird auch ein Abfallen des K-Gehaltes beobachtet; ein Auseinandergehen der Kurven des Ca-Gehaltes und von K läßt sich nicht bemerken. Das Verhältnis K/Ca wird zwar durch den Ca-Gehalt bestimmt, indem es mit dessen Vermehrung kleiner und seiner Verminderung größer wird, keineswegs aber in einem solchen Ausmaß, daß man von einer Proportionalität sprechen könnte. Die Veränderungen des K-Gehaltes halten die Verschiebung des Koeffizienten K/Ca auf die Seite zu Ca hin auf, gleichen sie aus. Außerordentlich bezeichnend sind in dieser Hinsicht die Beobachtungen am Hunde Nr. 6: Ungeachtet der jähen Ca-Verminderung auf 6,40 bis 7,60 mg-Proz. — eine Zahl, bei welcher das Auftreten von Tetanie zu erwarten wäre — zeigt das Tier keinerlei pathologische Anzeichen; zugleich mit Ca verminderte sich der K-Gehalt, und der Koeffizient blieb normal. Diese Unabhängigkeit des K-Gehaltes von der Art der Durchschneidung läßt die Annahme zu, daß die Veränderungen seines Gehaltes im Serum nach den Nervendurchtrennungen sekundären Charakters sind und von den Schwankungen des Ca-Gehaltes abhängen; *sie lassen sich als eine Art von Anpassung ansehen, mit Hilfe deren es zu einem Ausgleich des gestörten elektrolytischen Gleichgewichts kommt.* Diese Unbeständigkeit des K-Gehaltes ist auch von Einfluß auf den Koeffizienten K/Ca. Der Koeffizient fällt, wie aus den Tabellen zu ersehen ist, bei der Durchschneidung des Vagus sowohl am Halse wie auch unterhalb des Diaphragma (Hunde Nr. 3, 4, 5); dieser Abfall erscheint aber keineswegs als beständig und kann, wie die Beobachtungen an dem Hunde Nr. 2 zeigen, in eine Erhöhung übergehen; bei der Exstirpation des Pl. solaris (Tabelle V) zeigt der Koeffizient K/Ca periodische Schwankungen sowohl nach oben wie auch nach unten.

Einen etwas paradoxalen Effekt ergibt die Durchtrennung des N. vagus am Halse, wenn er vorher schon unterhalb des Diaphragmas durchschnitten worden war: Statt der zu erwartenden Vermehrung des Ca-Gehaltes kommt es zu dessen Verminderung; der K-Gehalt bleibt hierbei entweder normal oder vermindert sich etwas, wodurch es zu einer Vergrößerung des Koeffizienten K/Ca kommt (Hund Nr. 4), bei einigen Versuchen (Hund Nr. 2 und 5) zu Schwankungen nach unten. Diese Verminderung des Ca-Gehaltes bei der ergänzenden

Durchschneidung des Vagus am Halse wird, so läßt sich annehmen, durch ein allgemeines Sinken des Tonus des viszeralen Systems hervorgerufen durch die Ausschaltung eines beträchtlichen Abschnittes von ihm. Bemerkenswert ist, daß die Erhöhung des Koeffizienten K/Ca, die bei den Hunden Nr. 4 und 5 nach der ergänzenden Durchschneidung des Vagus am Halse beobachtet wurde, beim Hunde Nr. 2 ohne diese Durchschneidung nach Verlauf von 7 Monaten bloß nach der subdiaphragmalen Durchtrennung allein auftrat; die Durchschneidung des Vagus am Halse bei den Hunden Nr. 4 und 5 forcierte gewissermaßen den Prozeß des Ausgleichs und der Erhöhung des Koeffizienten, der nach bestimmter Frist auch bei subdiaphragmaler Durchschneidung der beiden Vagi allein auftritt.

Die Resultate unserer Versuche sprechen mit Überzeugung dafür, daß die Wechselbeziehungen zwischen dem vegetativen Nervensystem und den Elektrolyten des Blutes sich lange nicht in den Rahmen eines einfachen Schemas — Ca-Sympathicus, K-Vagus — hineinlegen lassen, und daß man in viel bestimmterer Weise den Quotient K/Ca mit der Funktion des Sympathicus in Zusammenhang bringen konnte, wie dies aus den Versuchen von *D. Alpern*[1]) über die Rolle der Elektrolyte für den Innervationsmechanismus der Speichelsekretion der Hunde zu ersehen ist. Das Blutbild der Elektrolyten, das als die summarische Wiedergabe ihrer Veränderungen in einer Reihe von Organen und Geweben erscheint, zeugt von keinem bestimmten Verhältnis zwischen diesem oder jenem Abschnitt des vegetativen Nervensystems und dem entsprechenden Elektrolyten; wir können bloß feststellen, daß eine Störung des Gleichgewichts zwischen den beiden Abteilungen des vegetativen Nervensystems von einer Gleichgewichtsstörung der Elektrolyten begleitet wird; weder der K-Gehalt noch der Charakter des Koeffizienten K/Ca des Serums läßt sich mit einer bestimmten Abteilung des viszeralen Systems in Verbindung bringen. Nur bezüglich des Ca-Gehaltes im Serum läßt sich, wie wir oben sahen, behaupten, daß sein Gehalt bis zu einem gewissen Grade mit dem sympathischen System in Zusammenhang steht und von dessen Funktion abhängt.

Herrn Privatdozent Dr. *Alpern* als Leiter des Laboratoriums bin ich dankbar für die freundliche Hilfe bei dieser Arbeit.

Schlußfolgerungen.

1. Die Konstanten K und Ca des Serums können als Anzeiger des Gleichgewichts der beiden Abteilungen des vegetativen Nervensystems dienen.

---

[1]) *D. Alpern*, Pflügers Arch. **209**, 1925.

2. Durchschneidung eines Vagus am Halse oder beider Vagi unterhalb des Diaphragmas führt zu einer Herabsetzung des Koeffizienten K/Ca, wobei nach einer bestimmten Frist der Koeffizient wieder zur Norm zurückkehrt oder sich sogar erhöht.

3. Die Entfernung des Plexus solaris und die Durchtrennung des N. splanchnici führt zu einem Sinken des Ca-Gehaltes im Serum.

4. Der K-Gehalt des Serums steht in keinem Zusammenhang mit dem Überwiegen der einen oder anderen Abteilung des viszeralen Nervensystems.

Übergang der Phosphor und Calcium enthaltenden unlöslichen Verbindungen in lösliche und Absorption derselben im Magendarm-Apparat[1]).

Von

W. M. Aristowsky.

(Aus dem pathologischen Kabinett des Instituts für experimentelle Medizin zu Leningrad.)

(Eingegangen am 21. September 1925.)

Wie die Verdauung der Proteine und Kohlenhydrate erfolgt, ist uns aus einer ganzen Reihe experimenteller Arbeiten bekannt. Was aber die Absorption der P- und Ca-Verbindungen anbelangt, so sind in dieser Richtung mehr oder weniger ausführliche Untersuchungen noch nicht gemacht worden. Der Zweck dieser experimentellen Untersuchung ist ein Versuch, mittels Experimenten an Tieren aufzuklären, wie die Verdauung und Absorption der P und Ca enthaltenden Komponenten des Futters, bei verschiedenen Sorten desselben und in verschiedenen Abteilungen des Verdauungsapparats geschieht.

Es ist bekannt, daß das phosphorsaure Calcium wie mit den Pflanzen so auch mit den tierischen Nährmitteln eingenommen wird. Nach *Berglein* machen das Darmepithel und die es durchdringenden Leucocyten mit Hilfe der in ihnen befindlichen Phosphornuclease die Phosphorsäure frei, welche das phosphorsaure Calcium in löslichen Zustand überführt.

Das sogenannte gemischte Futter nach *R. Emmerich* und *Loew* kann in keinem Falle die für den Organismus notwendige Zufuhr des Ca garantieren. Der größte Teil der gewöhnlichen Nährsubstanzen, wie Fleisch und Milchprodukte, geben dem Organismus nur eine geringe Menge der Calciumsalze.

Das phosphorsaure Calcium wird hauptsächlich per anum und teils mit dem Harn — vorzüglich bei grasfressenden Tieren — ausgeschieden (*Krüger*). *T. v. Wendt* bemerkt, daß der Darmkanal als wichtiges Exkretorgan in bezug auf Calciumsalze erscheint, wobei die Ausscheidung des Ca durch den Darmkanal in gewisser Beziehung zu der Menge des Phosphorgehaltes

[1]) Aus der Dissertation „Zum Studium über die Verdauungsprozesse nach der Thyreoidektomie“.

in der Nährsubstanz steht, im einzelnen des Phosphors, der notwendig ist für die Synthese des Phosphor enthaltenden Proteins. Wenn das Nährmittel in gewissem Grade reich an Proteinen und zu gleicher Zeit arm an Phosphor ist, so haben wir eine viel größere Ausscheidung des Ca durch den Darmkanal als im Falle, wenn die Nahrung arm an P und Proteinen ist. Was die Absorption des Ca anbetrifft, so ist sie nach dem Autor wegen schwerer Löslichkeit der größtenteils im Darmkanal sich befindenden Verbindungen derselben sehr gering. In manchen Fällen bekommt der Organismus P und Ca mit dem Futter in reichlicher Menge, z. B. bei der Milchnahrung, wenn zugleich diese Verbindungen in leicht absorbierender Form gegeben werden. Doch schützt sich der Organismus gegen solch eine überflüssige Zufuhr des Nährmaterials: er beschränkt die Absorption bis zu den für ihn nötigen Grenzen, jenseits derselben hört die Absorption schon auf. Dabei vollziehen sich alle Prozesse, nach den Bemerkungen von *Wendt*, allerdings auf chemischen Wegen. Wenn man aber den Tieren diese Verbindungen in leicht löslicher Form gibt und diese im Darmkanal nicht in schwer lösliche Verbindungen übergehen können, so erhält man eine verstärkte Absorption aus dem Darm, hauptsächlich aus den oberen Teilen desselben. Andererseits, wenn der Organismus sehr der P- und Ca-Verbindungen bedarf, so wird die Absorption sogar der schwerlöslichen anorganischen Verbindungen dieser Elemente nicht verhindert. Der Autor gab in einem Versuche schwefelsaures Ca und bekam eine sehr beträchtliche Absorption, was er nach dem hohen Gehalt des Ca im Harn beurteilt. Anorganischer P wird nach der Meinung des Autors im Falle großer Not scheinbar noch besser absorbiert als anorganisches Ca. Nach *Felix Oeri* hängt beim Menschen die Beziehung zwischen dem P des Kotes und dem P des Harns größtenteils von dem Gehalt des Ca in dem Nährmittel ab. Ausschließlich Pflanzennährsubstanzen, die reich an P und arm an Ca sind bei Zugabe von $CaCO_3$, erhöhen die Aussonderung des P mit dem Harn. Bei der Milchnahrung wird, infolge des hohen Gehaltes der Calciumsalze in der Milch, der P auch größtenteils in den Darmkanal ausgeschieden. Die Verteilung des Ca zwischen Kot und Harn hängt ebenfalls von der Sorte des Futters ab, und dementsprechend schwankt sie bald auf die eine bald auf die andere Seite. Bei reicher Ca-Nahrung mit Zusatz des P wird die Sekretion der Calciumsalze in dem Darm erhöht. Alle diese Beziehungen werden von *F. Oeri* folgendermaßen resümiert: Die Sekretion des P und Ca wird im Darmkanal erhöht 1. bei solch einem Nährmittel, welches, wie z. B. Milch, in großer Menge anorganische Verbindungen des P und Ca enthält, 2. bei Nährmitteln, die reich an P sind, wenn man noch Ca hinzufügt, 3. bei Nährmitteln reich an Ca, wenn man diesem anorganische Verbindungen des P zufügt, mit anderen Worten immer dann, wenn P und Ca zusammen im Organismus vorkommen. Diese Tatsache wird vom Autor so erklärt, wenn P und Ca im Organismus zusammenkommen, so erhält man solche Verbindungen, welche die Nieren schwer passieren, deshalb werden auch diese Verbindungen im Darmkanal ausgeschieden. Ebenso hängt, nach diesem Autor, bei den Tieren die Verteilung der Phosphorsäure zwischen Harn und Kot von dem Futter ab, der P im Kot vergrößert sich nämlich, sobald die anorganische Phosphorsäure im Organismus mit dem Ca zusammenkommt. Solchen Meinungen begegnen wir auch bei *P. Morawitz*, der sagt, daß die Verteilung des Ca zwischen Darm und Nieren sehr großen Schwankungen unterworfen ist, und vor allem hängt diese Verteilung von dem Phosphorsäuregehalt in dem Futter ab. Je mehr Ca und Phosphorsäure das Futter enthält, desto mehr Ca und P wird durch den Darm ausgeschieden. P und Ca, die sich zusammen

vereinigt haben, bilden das Calciumphosphat, welches die Nieren schwer passiert und hauptsächlich durch den Darm ausgeschieden wird. Die Ansicht, daß der Wechsel des P parallel mit dem Wechsel des Stickstoffs geht, hält dieser Autor für unrichtig. Nach seiner Meinung gehen diese beiden Prozesse, bei gewöhnlichem Futter, ganz unabhängig voneinander vor sich. Das minimale tägliche Bedürfnis an P ist nach der Meinung von *Morawitz* 3 bis 4 g P_2O_5 und 1 bis 2 g P nach den Berechnungen von *Ehrström*. Die Ausscheidung des P mit Harn oder Kot hängt auch nach *Morawitz* in hohem Grade von dem Calciumwechsel ab.

Zuweilen scheint es, als ob der Calcium- und Phosphorwechsel in ganz entgegengesetzter Richtung verlaufen kann. Unter welchen Umständen das geschieht, wird leider von dem Autor nicht angegeben. Unter anderem führt der von uns zitierte Autor folgende interessante Tabelle an, aus welcher man ersieht, wie die Verteilung des Ca zwischen Harn und Kot erfolgt nach den Ansichten verschiedener Autoren und abhängig davon, ob man dem Tiere Milch gibt oder nicht.

Name des Autors	Mit Milch		Ohne Milch	
	Ausscheidung des Ca			
	mit Harn Proz.	mit Kot Proz.	mit Harn Proz.	mit Kot Proz.
Renwall	29	71	36	64
Stockelmann	19	81	39	61
Oeri	6	94	—	—

Nach *Morawitz* wird bei der Milchnahrung die ganze Phosphorsäure durch die Nieren ausgeschieden, bei Pflanzennahrung aber umgekehrt — der größte Teil wird durch den Darm ausgeschieden.

Magnus-Levy weist darauf hin, daß der größte Teil des mit dem Kot ausgeschiedenen Ca vorläufig von dem Darmkanal absorbiert war und dann wieder durch diesen ausgesondert wurde, also können wir in jedem einzelnen Falle die Absorption des Ca (nach dem Kot zu urteilen) nicht bestimmen.

In Übereinstimmung mit dem vorherigen Autor findet *Rüdel*, daß, wenn man mit dem Futter phosphorsaures Natrium gibt, das Ca im Harn abnimmt, folglich werden die Calciumsalze weniger absorbiert. Anhydrochloricum scheint umgekehrt zu wirken, bei Verabreichung desselben nimmt das Ca im Harn zu. Zur Aufklärung des Einflusses der Peristaltik auf die Ausscheidung des Ca wurde vom Autor Opium gegeben, wobei es sich erwies, daß die vom Opium verursachte Verzögerung die Absorption der Calciumsalze vergrößert, folglich nimmt ihre Menge im Harn zu. Die Verabreichung von Ol. ricini hatte keinen Einfluß auf die Absorption der Calciumsalze.

Nach *O. Conheim* ist die Löslichkeit des Ca und der Phosphorsäure, wenn sie in einer Lösung vorkommen, von der Reaktion der Lösung abhängig: neutrales phosphorsaures $(PO_4)_2Ca_3$ ist unlöslich, aber andere Salze des Ca und der Phosphorsäure sind dagegen löslich. Phosphorsaures Ca wird von der Salzsäure gelöst, und bei neutraler Reaktion der Säfte werden das Ca und die Phosphorsäure in Harn und Kot getrennt. *Conheim* führt folgende Beobachtung von *Soetbeer* an, die später von *Krieger* und *Tobler* bestätigt wurde. Bei Erkrankung des Dickdarms kommt es manchmal vor, daß die Schleimhaut dieses Darmes nicht imstande ist, das Ca gut

auszuscheiden. Infolgedessen vergrößert sich die Menge des Ca im Harn zweifach. Ein Kranker von *Soetbeer* schied durchschnittlich (mit dem Urin) 0,418 g Ca täglich aus, währenddessen die Kontrollperson, welche sich ebenso ernährte, durchschnittlich nur 0,155 g ausschied. Die Ausscheidung des Ca mit dem Kot war bei dem genannten Kranken entsprechend geringer. Bezüglich der Bedingungen der Verteilung des Ca und P zwischen Harn und Kot sagt *Conheim* in Übereinstimmung mit anderen Autoren: Wenn Ca in Nährsubstanzen in geringer Menge enthalten ist, so wird die Phosphorsäure bis zu $^1/_5$ bzw. $^1/_6$ und sogar mehr mit dem Harn ausgeschieden, bei größeren Mengen Ca in der Nährsubstanz wird gegen die Hälfte der Phosphorsäure mit dem Kot ausgeschieden. Nach *Conheim* erscheint der Darm als spezifischer Ort der Sekretion des Ca und der Phosphorsäure. Nach seiner Meinung ist es gewiß, daß sich das Ca und der P zugleich mit anderen anorganischen Bestandteilen des Kotes im letzteren in solchen großen Mengen befinden, daß das Ca ausschließlich durch den Darm, die Phosphorsäure aber in gleichen Teilen mit Kot und Harn ausgeschieden wird. Nach *Conheim* ist es schwer zu entscheiden, bezüglich des Ca, wieviel von ihm durch den Darm ausgeschieden wird und wieviel nicht absorbiert ist. In Nährsubstanzen befindet sich Ca teils als phosphorsaures Ca, welches sich gut im Magen löst, im Dünndarm aber dagegen schlecht. Im Dünndarm tritt es zusammen mit Kohlensäure und anderen Säuren, mit welchen es schwer lösliche und unlösliche Verbindungen bildet.

Der Autor beruft sich auf die Beobachtungen von *Hönigmann*, welcher bei einer Kranken den größten Teil des Ca am Ende des Dünndarmes fand. Diesem entspricht die Beobachtung von *Heile* an einem Hund: nach der Fütterung mit Milch beobachtete *Heile* auch eine große Menge des phosphorsauren Ca am Ende des Dünndarmes. Nach der Meinung von *Conheim* könnte man auf Grund dieser Beobachtungen über die Ausscheidung des absorbierten Ca mit dem Darm-Ca sprechen, aber solch einer Ansicht widerspricht die Tatsache, daß das Ca sehr schwer von dem Darm absorbiert wird: so werden nach den Versuchen von *Rüdel* bei subkutaner Injektion des Ca beim Hunde mit Harn 12 bis 34 Proz. ausgeschieden, während man bei Einführung per os nur 1 bis 3 Proz. erhält. Aber dennoch nimmt *Conheim* an, daß ein Teil des im Kot befindlichen Ca unbedingt aus dem Organismus in den Darm ausgeschieden wird, denn *Müller* und *Voit* fanden das Ca sogar im Kot der hungernden Tiere. *Lindemann* nimmt an, daß man auf Grund der Menge der Calciumsalze im Kot nicht beurteilen kann, ob die ganze Masse nicht absorbiert war: am Anfang des Dünndarms wird, nach dem Autor, Ca absorbiert und in den Dickdarm wieder ausgeschieden. Die normalen Zifferangaben in bezug auf Ca im Harn und Kot nach *Lindemann* konnte man nicht feststellen.

Auf Grund der angeführten Literaturangaben können wir sagen, daß der Darm in bezug auf Ca und P nicht nur als Ort der Ausscheidung, sondern auch als Ort der Absorption erscheint. Genau zu bestimmen, wo im Darm die Ausscheidung des Ca und P geschieht und in welch einem Umfang, ist auf Grund der obengenannten Literaturangaben gewiß unmöglich. Scheinbar erscheint der ganze Darm, von dem Dünn- bis zum Dickdarm als ein Exkretorgan für die genannten Salze.

Jetzt wollen wir betrachten, wie die Verdauung der P und Ca enthaltenden Verbindungen und die Absorption derselben in ver-

schiedenen Abteilungen des Magendarmkanals bei unseren Versuchstieren geschieht. Unsere Versuche wurden nach der gewöhnlichen chymologischen Methodik aufgestellt. Wir setzten unseren Tieren — Hunden mittleren Alters und Wuchses — Metallfisteln in verschiedene Abteilungen des Verdauungskanals ein; auf den Magen, auf der Grenze des Jejunum und Ileum und auf der Grenze von Ileum und Coecum. Im ganzen sind von uns 30 Versuche an acht Hunden angestellt worden: zwei für das Studium der uns interessierenden Frage auf den Magen, drei in der Region des Jejunum und drei in der Region des Ileum. Im Futter und Chymus bestimmten wir den Ca- und P-Gehalt nach dem Verfahren von *Neumann*, wobei wir den Prozentgehalt dieser Komponenten im Chymus in bezug auf die mit dem Futter eingenommenen Komponenten bei den Magenhunden nach der Entfernung dieser Elemente aus dem Magen beurteilen, und bei den Darmhunden nach der Absorption ihrer Verbindungen vermittelst der Darmschleimhaut. Für die Beurteilung der Verdauung des Futters, welches diese oder jene Verbindung von Ca und P enthält, haben wir in den Versuchen mit den Magenhunden als Maß das Prozentverhältnis dieser unlöslichen Verbindung im Chymus zu der ganzen Menge (löslicher und unlöslicher) des erhaltenen Mageninhalts genommen. In den Versuchen mit den Darmhunden diente uns zu diesem Zwecke ein vollständig genaues Kriterium, das Prozentverhältnis des unverdauten Stoffes, in einer gewissen Periode der Verdauung gesammelt, zu der ganzen Menge dieses Stoffes, welchen das Tier mit dem Futter bekommen hatte.

Bei der Beschreibung unserer Versuche beginnen wir mit der Erörterung der sogenannten Magenhunde, d. h. der Hunde, die eine Magenfistel haben. Bei einem von diesen, „Dwornjaschka", wurden die Versuche nur mit Milch angestellt, und bei dem zweiten, „Polkan", mit Milch und Fleisch. In Anbetracht dessen, daß der Magen nur die geringsten Mengen von dem aufgenommenen Futter absorbieren kann (*E. S. London*), werden wir nur die Entfernung aus dem Magen in den Darm der uns interessierenden Chymuskomponenten Ca und P bezeichnen. Die Versuche mit „Dwornjaschka" verliefen im einzelnen in folgender Weise:

Im Versuch 1. Der Hund bekam 600 ccm Milch. Die Fistel wurde nach 2 Stunden geöffnet und das Chymus auf Ca und P untersucht, im zweiten Versuch befand sich das Futter 3 Stunden im Magen, im dritten 4 Stunden, im vierten 5 Stunden.

Die Ergebnisse der Analyse des Futters und Chymus in bezug auf die Anwesenheit von Ca und P werden in der Tabelle I angeführt.

Aus dieser Tabelle sieht man, daß Ca und P den Magen fast mit gleicher Geschwindigkeit verlassen, obgleich das Ca in dem Darmkanal

Tabelle I.

Nr.	Datum	Auf wieviel Stunden wurde das Futter gegeben	Das Futter: 600 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
					Ca				P					
			CaO	P_2O_5	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	CaO Proz.	P_2O_5 Proz.
1	9.XII.	2	1,13	1,32	0,226	0,096	30	0,322	0,204	0,083	29	0,287	28	22
2	13.XII.	3	1,13	1,32	0,099	0,027	21	0,126	0,053	0,086	63	0,139	11	10
3	17.XII.	4	1,33	1,32	0,076	0,038	33	0,114	0,06	0,085	59	0,146	10	11
4	19.XII.	5	1,092	1,38	0,089	0,0067	7	0,095	0,071	0,041	37	0,112	9	8

ein wenig langsamer entfernt wird; während das Ca nach 2 Stunden im Magen in bezug auf das Futter 28 Proz. blieb, betrug P nur 22 Proz. Dafür verlassen in den folgenden Stunden P und Ca den Magen fast gleichmäßig, wobei hauptsächlich diese Eliminierung zwischen der zweiten und dritten Stunde der Verdauung geschieht, und dann geht die Entleerung des Magens von den genannten Bestandteilen des Futters ganz langsam. Was jetzt die Verdauung im Magen anbelangt oder richtiger die Lösung von Ca und P enthaltenden Verbindungen, so ist aus der Tabelle I zu ersehen, daß das Prozentverhältnis dieser unlöslichen Chymuskomponenten zu der ganzen Menge derselben (auch im Chymus) für die ersten 2 Stunden der Magenverdauung fast gleich war (gegen 30 Proz.). In den folgenden Stunden, der dritten und vierten, wird dieses Prozentverhältnis bei P um das Doppelte größer, das Ca hat auch die Neigung zur Steigerung, obwohl für die dritte Stunde der Verdauung statt 30 Proz. unlöslichen Ca 21 Proz. vorhanden waren, dafür in der vierten Stunde schon 33 Proz. Diese Vergrößerung der unlöslichen Substanzen in den bezeichneten Stunden der Verdauung erklärt sich wahrscheinlich dadurch, daß die löslichen Substanzen schnell aus dem Magen entfernt werden, wobei die löslichen Salze des P scheinbar den Magen schneller verlassen als die löslichen Salze des Ca. Und zwar sehen wir aus der einfachen Berechnung folgendes: Wie schon angegeben, erhielten wir in der dritten und vierten Stunde der Verdauung im Chymus das gleiche Prozentverhältnis des P und Ca in bezug auf das Futter, und bei diesem fast ein und demselben Prozentgehalt findet sich P hauptsächlich in Form unlöslicher Salze vor; unlösliche Salze des P waren in diesen Stunden im Mittel 61 Proz., von Ca nur 27 Proz. vorhanden.

Es bleibt uns noch übrig, unseren vierten Versuch zu erwähnen. Im Laufe der fünften Stunde der Magenverdauung war die Eliminierung sichtbar sehr schwach, die allgemeine Menge des P und Ca im Vergleich mit den vorherigen 2 Stunden verringerte sich sehr unbedeutend:

Ca wurde statt 10 9 Proz., P statt 11 3 Proz. Im Chymus dagegen verringerte sich zu gleicher Zeit der Prozentgehalt der unlöslichen P- und Ca-Salze stark; statt 60 Proz. des unlöslichen P wurden 37 Proz., und Ca statt 33 nur 7 Proz. vorgefunden. Folglich ging die Verdauung der Ca und P enthaltenden Verbindungen in dieser Stunde der Beobachtung sehr gut, die Ausscheidung war verzögert.

Auf diese Weise war bei „Dwornjaschka“ der Übergang der Ca- und P-Verbindungen aus dem Magen in den Darm am besten in der dritten und vierten Stunde der Verdauung, die allerbeste Verdauung dieser Verbindungen erfolgte in der fünften Stunde.

Jetzt werden wir sehen, wie die Verdauung und Entfernung aus dem Magen der uns interessierenden Verbindungen bei Milchfutter beim anderen Hunde „Polkan“ vor sich ging. Hier waren die Versuche etwas anders angestellt. „Polkan“ erhielt das Futter in allen Versuchen mit ein und derselben Frist für 2 Stunden, so daß jeder folgende Versuch als Wiederholung des früheren erscheint.

Die Ergebnisse der Futteranalyse und Chymus werden in der Tabelle II dargestellt.

Tabelle II.

Nr.	Datum	Auf wieviel Stunden wurde das Futter gegeben	Das Futter: 600 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
					P				Ca					
			P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	3. II.	2	0,92	0,72	0,146	0,295	62	0,441	0,181	0,234	56	0,415	48	57
2	8. II.	2	0,8	0,72	0,119	0,185	60	0,304	0,14	0,144	50	0,284	38	40
3	11. II.	2	0,8	0,72	0,082	1,193	70	0,275	0,126	0,149	54	0,275	34	38
4		2	0,84	0,72	0,116	0,224	64	0,34	0,149	0,176	53	0,324	40	45

Dementsprechend können wir, was wir bei „Dwornjaschka“ beobachtet haben, auch hier sehen, daß die Ca-Salze den Magen langsamer verlassen als die P-Salze. Während nach 2 Stunden der Verdauung im Chymus 45 Proz. Ca-Salze blieben, waren nur 40 Proz. P-Salze vorhanden. Bezüglich der Verdauung der P- und Ca-Verbindungen bei „Polkan“ haben wir auch eine Analogie mit der Verdauung dieser Elemente bei „Dwornjaschka“. Dort beobachteten wir an einer Reihe von Versuchen, daß die P-Verbindungen schwerer in lösliche übergehen als Ca, auch hier ist der Prozentgehalt des unlöslichen P in bezug auf die ganze Menge P im Chymus höher als derselbe Prozentgehalt bei Ca. Im Durchschnitt war das Prozentverhältnis des unlöslichen P 64 Proz. und Ca 53 Proz.

Jetzt werden wir beobachten, wie die Verdauung der P- und Ca-Verbindungen bei der Fleischnahrung vonstatten gehen wird.

Zur Aufklärung dieser Frage haben wir „Polkan“ auf 5 Stunden 400 g Fleisch gegeben und solcher Versuche wurden drei aufgestellt. Die Tabelle III zeigt, wie die Verdauung der uns interessierenden Komponenten des Futters und die Entfernung derselben aus dem Magen in den Darmkanal geschah.

Tabelle III.

Nr.	Datum	Auf wieviel Stunden wurde das Futter gegeben	Das Futter: 400 g Fleisch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
					P				Ca					
			P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	15. II.	5	2,08	0,078	0,332	0,287	46	0,619	0,0365	—	—	0,0365	30	47
2	20. II.	5	2,08	0,078	0,358	0,399	52	0,757	0,0313	—	—	0,0313	36	40
3	23. II.	5	2,08	0,078	0,355	0,514	59	0,869	0,047	—	—	0,047	41	60
		5	2,08	0,078	0,348	0,4	52	0,746	0,038	—	—	0,038	36	49

Bei der Betrachtung dieser Tabelle sehen wir, daß auch bei Fleisch. futter, wo im Vergleich mit Milch die Salze in sehr geringer Menge vorhanden sind, diese Salze auch den Magen viel langsamer verlassen als die P-Salze. Während wir nach 5 Stunden Magenverdauung im Chymus 49 Proz. Ca bekommen, waren nur 36 Proz. P vorhanden. In der Verdauung der P- und Ca-Verbindungen bei Fleischfutter wird auch derselbe Unterschied beobachtet, den wir bei der Milchnahrung beobachteten: die P-Verbindungen gehen schwerer als die Ca-Verbindungen in lösliche über, wobei bei Fleischfutter dieser Unterschied viel schärfer ausgedrückt ist. Nach fünfstündiger Arbeit des Magens betrug der unlösliche P im Durchschnitt 52 Proz., während das Ca in dieser Zeit völlig in löslichen Zustand übergegangen war.

Auf diese Weise haben wir in allen unseren Versuchen bei den Magenhunden mit verschiedenem Futter sehr ähnliche Ergebnisse erhalten.

Jetzt wollen wir beobachten, wie die Verdauung und die Absorption der P und Ca enthaltenden Verbindungen in dem Darm geschieht. Zuerst wollen wir die Ergebnisse zitieren, die wir von den Hunden mit der Fistel in der Region des Jejunum bekommen haben. Solcher Hunde hatten wir drei: „Weißer Pudel“, „Scheltowka“ und „Pjatnuschka“. Der Chymus bei den genannten Hunden, wie auch bei Hunden mit der Fistel in der Region von Ileum, wurde so lange gesammelt, bis wir schon im Laufe einer Stunde keine Exkretion mehr bekommen haben. Die

Aufstellung der Versuche mit dem „Weißen Pudel“ war etwas anders als mit „Scheltowka“ und „Pjatnuschka“, und zwar: vom „Weißen Pudel“ nahmen und analysierten wir den Chymus, den wir in der ersten Stunde der Beobachtung bekamen, separat von dem Chymus, den wir in der folgenden Zeit des Versuchs bekamen, während bei den zweiten Hunden der Chymus nur in einer Portion gesammelt wurde, in welcher der Gehalt der uns interessierenden Komponenten untersucht wurde. Außerdem wurde ein Versuch mit dem „Weißen Pudel“ aufgestellt, in welchem wir den ganzen Chymus trockneten und den Gehalt der allgemeinen Menge des P und Ca in ihm untersuchten, mit anderen Worten: es wurde nur allein die Absorption ohne Bestimmung der Verdauung studiert.

Tabelle der Versuche mit dem „Weißen Pudel“.

Tabelle IV.

Nr.	Datum	Das Futter: 600 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
				P				Ca					
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	16. X.	1,35	1,08	0,402	0,127	9	0,529	0,306	0,19	17	0,496	79	103
				0,473	0,145	10	0,618	0,263	0,359	33	0,622		
2	18. X.	1,44	1,2	0,41	0,192	13	0,602	0,248	0,22	18	0,468	73	103
				0,418	0,0272		0,445	0,297	0,48	40	0,777		
3	21. X.	1,38	1,33	0,329	0,175	13	0,504	0,331	0,365	27	0,696	77	109
				0,431	0,149	10	0,58	0,22	0,541	40	0,761		
		1,39	1,2	0,38	0,164	12	0,545	0,295	0,258	20	0,553	76	105
				0,44	1,107	7	0,548	0,26	0,46	37	0,72		
4	25. X.	1,26	1,4	—	—	—	1,08	—	—	—	1,54	85	110

Aus dieser Tabelle sieht man, daß, entsprechend den Literaturangaben, die Absorption der P-Verbindungen, besonders aber des Ca, in den Dünndarm sehr schwach geschieht, wobei hier das Ca vielleicht schon mittels des Darmes ausgeschieden werden kann, in allen Versuchen bekommen wir im Chymus mehr Ca als im Futter vorhanden war; im Durchschnitt von vier Versuchen auf 6 Proz. Übrigens kann dieser geringe Überfluß des Ca vielleicht von den Säften ergänzt werden. Eine bestimmte Berechnung hier zu machen, ist wohl kaum möglich. Was die Verdauung der P und Ca enthaltenden Verbindungen anbelangt, so sieht man aus der dargestellten Tabelle, daß im Jejunum beim „Weißen Pudel“ die P-Verbindungen besser verdaut waren als die Ca-Verbindungen; im Durchschnitt waren im ganzen Chymus 19 Proz.

unverdauten P vorhanden, aber unverdautes Ca beinahe 60 Proz., wobei in der ersten Stunde der Beobachtung die Verdauung der Ca-Verbindungen besser war als in der übrigen Periode des Versuchs, aber die Verdauung des P war umgekehrt.

Jetzt gehen wir zu den Versuchen mit der Fistel in der Region des Dünndarms über. Bei diesen Hunden wurden zwei Versuche mit Fleisch und ein Versuch mit Milch aufgestellt.

Tabelle V. „Pjatnuschka" — Versuch mit Milch.

Nr.	Datum	Das Futter: 400 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu: P				Ca				Verhältnis zum Futter	
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	28. XII.	0,88	0,76	0,316	0,396	45	0,712	0,103	0,631	83	0,734	81	96

Aus dieser Tabelle sehen wir, daß auch hier wie bei dem „Weißen Pudel", die Absorption der Ca-Salze in Jejunum sehr schwach geschieht, wobei die Ca-Salze wieder viel schlechter absorbiert werden als die P-Salze; während wir im Chymus 96 Proz. Ca bekamen, war P nur 81 Proz.

Was die Verdauung anbelangt, so können wir bei „Pjatnuschka" analog den Angaben, die wir bei dem vorhergehenden Hunde bekommen haben, sehen, daß die P-Verbindungen besser als die Ca-Verbindungen verdaut werden. Das Prozentverhältnis des unlöslichen P zu dem ganzen P des erhaltenen Futters war 45 Proz., dasselbe Verhältnis bei Ca war 83 Proz., d. h. beinahe doppelt so hoch.

Die Tabelle VI zeigt, wie die Verdauung und Absorption der uns interessierenden Verbindungen bei „Pjatnuschka" bei Fleischfutter verläuft.

Tabelle VI. „Pjatnuschka" — Fleisch.

Nr.	Datum	Das Futter: 600 g Fleisch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu: P				Ca				Verhältnis zum Futter	
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	1. III.	3,12	0,1176	0,565	—	—	0,565	0,246	—	—	0,246	12	209
2	15. III.	3,12	0,1176	0,66	0,117	4	0,777	0,263	0,014	11	0,217	26	184
		3,12	0,1176	0,607	0,058	2	0,671	0,225	0,007	5	0,231	21	196

Der Versuch mit Fleisch ist nach unserer Meinung sehr belehrend. Aus demselben ist ersichtlich, daß der Darmkanal in der Region von Jejunum als ein Exkretorgan in bezug auf die Ca-Salze erscheint. Im Vergleich mit dem Futter bekamen wir durchschnittlich im Chymus beinahe 200 Proz. Ca zurück. Augenscheinlich erhielten wir hier das Ca, welches aus dem Futter des vorigen Tages absorbiert und jetzt aus dem Darme ausgeschieden wurde. Was den P anbelangt, so erweist sich, daß beim Fleischfutter das P im Jejunum sehr gut absorbiert wird (fast 80 Proz.). Aus Tabelle VI kann man auch sehen, daß die Verdauung in dem Jejunum der P und Ca enthaltenden Verbindungen bei Fleischfutter sehr gut geschieht, unverdauter P war durchschnittlich 2 Proz., unlösliches Ca 5 Proz.

Endlich verfolgen wir die Verdauung und Absorption der uns interessierenden Komponenten des Futters beim dritten Hunde, „Scheltowka", mit der Fistel in der Region von Jejunum, bei welchem wir einen Versuch mit Milch und zwei Versuche mit Milch und Brot angestellt hatten.

Tabelle VII.

„Scheltowka" — Milch.

Nr.	Datum	Das Futter: 400 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
				P				Ca					
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	14. XII.	0,8	0,78	0,6	—	—	0,6	0,378	0,376	48	0,754	75	97

Und hier sehen wir die volle Analogie mit dem, was wir bezüglich der Verdauung und Absorption der P- und Ca-Verbindungen mit Milchfutter bei den vorhergehenden Hunden beobachtet haben, und zwar die Absorption dieser Komponenten der Milch, besonders Ca, wird von Jejunum sehr schwach vollbracht, fast das ganze Ca des Futters bekamen wir mit dem durch die Fistel ausgeschiedenen Chymus zurück, den P bekamen wir ebenso wie in den vorhergehenden Versuchen zurück, aber etwas weniger. Was die Verdauung anbelangt, so können wir übereinstimmend mit dem, was wir in den Versuchen mit dem „Weißen Pudel" und „Pjatnuschka" sahen, bemerken, daß die P-Verbindungen im Jejunum unvergleichlich besser in lösliche übergehen als Ca, während das Prozentverhältnis des unlöslichen Ca zum ganzen Ca des Futters 48 Proz. war, war der ganze P dort im löslichen Zustande.

Tabelle VIII zeigt, wie die P- und Ca-Verbindungen im Jejunum bei gemischtem Futter — Milch und Brot — verdaut werden.

Tabelle VIII.
„Scheltowka" — Milch und Brot.

Nr.	Datum	Das Futter: 100 ccm Milch 100 g Brot		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
				P				Ca					
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
2	26. XI.	0,445	0,253	0,262	0,11	25	0,372	0,144	0,019	47	0,263	83	104
3	29. XI.	0,445	0,253	0,26	0,144	25	0,374	0,127	0,144	46	0,231	84	91
		0,445	0,253	0,261	0,112	25	0,373	0,135	0,117	46	0,258	83	98

Nach unserer Meinung bekommt man hier sehr ähnliche Ergebnisse mit denen, die wir in den vorherigen Versuchen beobachtet haben. Die Absorption des P und besonders des Ca im Jejunum, auch bei gemischtem Futter, geht sehr schwach, wiederum bekommen wir fast das ganze Ca zurück, P wird durchschnittlich gegen 17 Proz. absorbiert. Was die Verdauung anbelangt, so beobachten wir auch hier, daß die P-Verbindungen leichter in lösliche übergehen als die Ca-Verbindungen. Das Prozentverhältnis des unlöslichen P des Chymus zu dem ganzen P des Futters war durchschnittlich 25 Proz., dasselbe in bezug auf Ca 46 Proz., d. h. fast doppelt so hoch.

Jetzt gehen wir zu der letzten von uns untersuchten Abteilung des Verdauungsapparats über, zu dem Ileum. Wir hatten drei Hunde mit der Fistel in der Region von Ileum: „Fox", „Lochmotka" und „Belonoschka". Bei „Fox" wurde ein Versuch mit Milch und ein Versuch mit Milch und Brot angestellt. Die Ergebnisse der Versuche sind aus der Tabelle IX und X zu ersehen. Die Tabelle IX zeigt, daß man keinen großen Unterschied in der Absorption und Verdauung der P- und Ca-Verbindungen im Ileum bei Milch beobachtet, aber auch hier gehen die Ca-Salze in lösliche über und werden schlechter absorbiert als P.

Tabelle IX.
„Fox" — Milch.

Nr.	Datum	Das Futter: 400 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
				P				Ca					
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	5. XII.	0,8	0,78	0,109	0,359	44	0,463	0,148	0,385	50	0,478	58	61

Jetzt führen wir die Tabelle X des Versuchs mit gemischtem Futter — Milch und Brot — auch bei „Fox“ an.

Tabelle X.

„Fox“ — Brot und Milch.

Nr.	Datum	Das Futter: 100 g Brot 100 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
				P				Ca					
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
2	10. XII.	0,445	0,253	0,154	0,086	20	0,24	0,136	0,07	30	0,206	54	81

Wenn wir die Angaben der Tabelle X mit den Angaben, die wir mit dem gleichen Futter bei „Scheltowka“ (Fistel im Jejunum) bekommen haben, vergleichen, so ist es ersichtlich, daß die Absorption des P und Ca im Ileum weiter geht, als es im Jejunum war; bei „Scheltowka“ erhielten wir im Chymus 98 Proz. zurück, bei „Fox“ nur 81 Proz., P war dort 83 Proz., hier 54 Proz. Im allgemeinen bleibt doch die Tatsache, daß auch hier die Verbindungen des Ca schlechter absorbiert werden als die des P. Was die Verdauung anbelangt, so zeigt der Versuch mit gemischtem Futter ebenso wie der vorherige Versuch mit Milch, daß im Ileum der Unterschied in der Verdauung der P und Ca enthaltenden Verbindungen bei gemischtem Futter nicht sehr groß ist, während unlösliches P 80 Proz. war, war unlösliches Ca 70 Proz. Die Ähnlichkeit mit den Angaben des vorherigen Versuchs besteht folglich darin, daß die Salze des P besser in lösliche übergehen als die Salze des Ca.

Mit dem zweiten Hunde, „Lochmotka“, mit der Fistel im Ileum, hatten wir vier Versuche angestellt, alle mit Milch. In drei Versuchen bestimmten wir, wie gewöhnlich, die Menge der löslichen und unlöslichen Verbindungen des P und Ca, und in einem Versuche wurde nur die Menge dieser Komponenten im Chymus bestimmt.

In der Tabelle XI führen wir die Analysen dieser Versuche an.

Aus der Tabelle XI sieht man, daß auch bei „Lochmotka“ die Absorption des Ca und P stärker vor sich ging als bei den Hunden mit Fisteln im Jejunum, aber das Ca wird wie vorher schlechter als P absorbiert. Die Durchschnittszahlen der drei ersten Versuche zeigen, daß 39 Proz. P zurückbekommen wurden und 47 Proz. Ca. Diesen Angaben stehen die Zahlen des vierten Versuchs nahe.

Tabelle XI.

„Lochmotka“ — Milch.

Nr.	Datum	Das Futter: 600 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu P				Ca				Verhältnis zum Futter	
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	3. I.	1,38	1,17	0,044	0,475	35	0,519	0,096	0,338	20	0,434	37	37
2	7. I.	1,38	1,17	0,021	0,486	35	0,507	0,16	0,486	35	0,546	36	46
3	12. I.	1,26	1,19	0,022	0,546	43	0,568	0,11	0,585	48	0,695	45	58
5	15. I.	1,34	1,18	0,029	0,502	37	0,531	0,112	0,47	37	0,558	39	47
4	15. I.	1,26	1,19	—	—	—	0,428	—	—	—	0,56	34	47

Was die Verdauung anbelangt, so beobachteten wir bei „Lochmotka“, daß die Salze des P und Ca in den Ilei ganz gleich in löslichen Zustand übergehen.

Jetzt bleibt uns noch übrig, den Versuch bei dem letzten Hunde „Belonoschka“ mit der Fistel im Ileum zu betrachten, an welchem ein Versuch mit Milch und zwei Versuche mit Fleisch angestellt wurden.

Zuerst führen wir die Tabelle an, welche die Verdauung und Absorption der uns interessierenden Verbindungen bei Fleischfutter zeigt. Aus der Tabelle XII sieht man, daß beim Fleischfutter der P in dem Ileum sehr gut absorbiert wird, in beiden Versuchen bekommen wir 7 Proz. des P zurück, folglich werden 93 Proz. des mit dem Futter eingenommenen P in den Darm absorbiert.

Tabelle XII.

„Belonoschka“ — Fleisch.

Nr.	Datum	Das Futter: 600 g Fleisch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu P				Ca				Verhältnis zum Futter	
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
1	17. III.	3,12	0,1176	0,173	0,042	1	0,215	0,25	0,014	11	0,264	7	224
2	23. III.	3,12	0,1176	0,148	0,059	2	0,207	0,129	0,095	80	0,224	7	190
		3,12	0,1176	0,16	0,051	2	0,211	0,19	0,054	45	0,244	7	207

Was die Absorption des Ca anbelangt, so müssen wir auch hier, analog den Angaben, die wir bezüglich der Absorption der

Ca-Verbindungen bei Fleischfutter beim Hunde mit der Fistel im Jejunum bei „Pjatnuschka" erhalten haben, anerkennen, daß Ca bei Fleisch vom Ileum nicht absorbiert wird, sondern umgekehrt, es wird in den Darm ausgeschieden. Im Durchschnitt bekamen wir bei „Belonoschka" 207 Proz. zurück. Wegen der Verdauung der uns interessierenden Bestandteile des Fleisches bemerken wir, daß, nach dem Prozentverhältnis des ungelösten P und Ca des Chymus zu der allgemeinen Menge im Futter zu urteilen, die P enthaltenden Verbindungen im Ileum bei „Belonoschka" 22mal besser verdaut werden als die Ca.

Bei „Belonoschka" wurde noch ein Versuch mit Milch aufgestellt. Tabelle XIII erklärt, wie die Verdauung und Absorption der uns interessierenden Komponenten der Milch in diesem Versuche ging.

Tabelle XIII.
„Belonoschka" — Milch.

Nr.	Datum	Das Futter: 600 ccm Milch		Der Bestand des Chymus im Verhältnis zu								Verhältnis zum Futter	
				P				Ca					
		P_2O_5	CaO	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	löslich	unlöslich	Verhältnis Proz.	Summe	P_2O_5 Proz.	CaO Proz.
3	28. III.	1,26	1,11	0,431	0,114	9	0,545	0,652	0,228	20	0,88	43	79

Hier sehen wir dasselbe, was wir bei den vorherigen Hunden sahen: Die Absorption der Ca-Verbindungen und gleichfalls Verdauung derselben geschieht viel schlechter als die P-Verbindungen.

Jetzt werden wir die von uns erhaltenen Angaben mit den oben erwähnten Literaturangaben zusammenstellen. Wir haben dort gesehen, daß die Mehrheit der Autoren den Darm als Exkretorgan in bezug auf das Ca-Salz und gleichfalls auch P-Salz rechnet, wobei als allergünstigster Moment für die gegebene Exkretion die Verbindung im Futter der genannten Elemente erscheint, z. B. in der Milch. Dementsprechend haben wir auch in allen Versuchen mit Milch an den Hunden mit Fisteln im Jejunum hohen Gehalt des P und Ca im Chymus bekommen. Bei den Hunden aber mit den Fisteln im Ileum waren diese Elemente im Milchchymus viel geringer vorhanden, folglich geschieht scheinbar die Absorption des Ca und P bei Milchfutter in dieser Abteilung des Darmes. Bei der gemischten Nahrung — Milch und Brot — erhielten wir im Chymus der Jejunumhunde eine größere Menge des P und Ca, scheinbar deshalb, weil hier im Futter diese Elemente in sehr großer Menge vorhanden waren.

Im Ileum bei gemischter Nahrung — auch Milch und Brot — finden sich P und Ca schon in kleineren Prozenten. Bei der Fleischnahrung, die reich an P und sehr arm an Ca ist, haben wir eine ungeheure Ausscheidung des Ca mittels des Darmes, während aber P fast ganz absorbiert wird, wobei diese Absorption im Ileum besser als im Jejunum ging, das Ca bei Fleisch wird vollständig in keiner Abteilung des Darmes absorbiert.

Etwas Bestimmtes betreffs der Löslichkeit des P und Ca in der Salzsäure des Magens zu sagen, über welche *Conheim* spricht, können wir auf Grund unserer Versuche nicht, weil wir zugleich mit der Verdauung im Magen noch eine Entfernung der verdauten gelösten Stoffe in eine weitere Etappe — Darm — haben.

Auf Grund unserer Beobachtungen scheint der Dünndarm als Exkretororgan nur für Ca und dann auch nur bei Fleischnahrung in Betracht zu kommen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Exkretion von P_2O_5 und CaO in den Dickdarm geschieht, aber in dieser Richtung haben wir keine Versuche angestellt.

Literatur.

1) *M. Masslow*, diese Zeitschr. **114**, 106. — 2) *S. Weissler*, ebendaselbst **116**, H. 1/3, S. 95. — 3) *O. Berglein*, Proc. Soc. exper. Biol. **12**, 1, 22; Zentralbl. f. Phys. **30**, 1915. — 4) *Emmerich* und *Leew*, Zeitschr. f. Hyg. **127** (3), 311. — 5) *Wendt*, Mineralstoffwechsel, Handb. d. Biochem. **4**. — 6) *Felix Oeri*, Zeitschr. f. klin. Med. 1904. — 7) *P. Morawitz*, Handb. d. Biochem. **4**. — 8) *Magnus Levy*, Verh. 25 Kongr. inn. Med. 1909. — 9) *Rüdel* Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **33**, 1893. — 10) *Conheim*, Verdauung und Ernährung 1908. — 11) *T. Soetbeer*, Jahrb. f. Kinderheilk. **54**, 1, 1901. — 12) *A. Lindemann*, Zeitschr. f. exper. Pathol. **15** (3), 436.

Über bakterizide Eigenschaften in der Chinongruppe.

Von

Siegfried Hilpert (Berlin).

(Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium der Königsberger Zellstoff-Fabriken und Chemischen Werke Koholyt Aktiengesellschaft, Berlin.)

(Eingegangen am 23. September 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Forschungen über die Wirkung von Desinfektionsmitteln lassen sich in wenige Gruppen einteilen. Zunächst ist unter rein chemischen Gesichtspunkten am eingehendsten die Abhängigkeit der bakteriziden Eigenschaften von der chemischen Konstitution untersucht worden. Ein typisches Beispiel bieten die Phenole, deren einfachster Vertreter als Prototyp der Desinfektionsmittel seit langem bekannt ist. Durch systematische Untersuchungen hat man die Beeinflussung durch Substituenten festgestellt. Hierbei hat sich gezeigt, daß die Einführung von Halogen die Wirkung steigert[1]), während umgekehrt auch Substituenten festgestellt worden sind, welche die bakterizide Wirkung abschwächen oder vernichten. Dies gilt allgemein vom Carboxyl und insbesondere von der Sulfogruppe.

Weiter hat man sich die allgemeinere Frage vorgelegt, welchen Weg die Wirkung des Desinfektionsmittels auf den Mikroorganismus nimmt. Hier bestehen nur drei Möglichkeiten: chemische Bindung, Adsorption oder einfache Verteilung nach dem Verteilungssatz. Die chemische Bindung wurde z. B. bei der Einwirkung des Formaldehyds auf Hefe festgestellt, weil hier stets eine bestimmte Menge aufgenommen wird[2]). In anderen Fällen, insbesondere bei der Wirkung des Phenols auf Hefe, sprechen die Ergebnisse teils für eine Adsorption, teils aber auch für eine Verteilung zwischen Organismus und Agens. So wertvoll diese Arbeiten sind, so kann man sich bei der Durchsicht einer Zusammenstellung der Ergebnisse des Gefühls nicht erwehren,

[1]) *Laubenheimer*, Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel. Wien 1909; *Bechhold* und *Ehrlich*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 173, 1906.

[2]) *Herzog* und *Betzel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**, 309, 1910; **74**, 221, 1911.

daß die Sicherheit der erhaltenen Zahlen eine weitgehende theoretische Deutung nicht gestattet. Vor allem ist der Wert der Unterscheidung, ob Adsorption oder Verteilung stattfindet, als heuristisches Prinzip doch sehr begrenzt; denn sie geben höchstens einen allgemeinen Rahmen, innerhalb dessen sich die Prozesse vollziehen müssen, und keinerlei Verständnis dafür, warum die Abtötung überhaupt erfolgt. Dazu spielen sicherlich noch Diffusionsvorgänge besonders innerhalb des Organismus selbst eine wesentliche Rolle, so daß kinetische oder statische Untersuchungen sehr beeinträchtigt werden.

Die Einwirkung der Agenzien auf die Mikroorganismen wird im wesentlichen durch die Oberfläche stattfinden. Sie besteht nach heute allgemein gültiger Auffassung aus Protoplasma, also einem innigen Gemisch aus Proteinen und Lipoiden. Nachdem die Löslichkeit in Lipoiden durch die Arbeiten von *H. H. Meyer* als Voraussetzung für die Wirkung der Narkotica erkannt worden ist, hat man nun den Lipoiden auch in der Desinfektion eine wesentliche Rolle zugeschrieben. Man nimmt an, daß die Lipoidlöslichkeit direkt ein Maß für die Durchgangsgeschwindigkeit einer Substanz durch die Zellhaut bildet, so daß also den Proteinen insbesondere für den Transport eine untergeordnete Rolle zufallen würde. Diese etwas radikale Übertragung der Erfahrungen aus der Narkose hat nun dazu geführt, daß heute unter den notwendigen Qualitäten eines Desinfiziens als erste die Lipoidlöslichkeit genannt wird.

Daß die Bakterien in ihrem Bau und in chemischer Hinsicht verschieden sind, geht aus der spezifischen Wirkung einzelner Desinfektionsmittel hervor. Man hat aber bis heute keine präziseren Anhaltspunkte, worauf diese Verschiedenheiten zurückzuführen sind.

Die folgenden Untersuchungen zeigen nun, daß die Gruppe der Chinone, die bisher in der Desinfektionsliteratur kaum erwähnt wird, sehr geeignet ist, verschiedene oben aufgeworfene Fragen wenigstens in gewissem Umfange zu beantworten.

O
Cl Cl
Cl Cl
O

Der Ausgangspunkt der Untersuchungen war das Tetrachlorchinon oder Chloranil, das sich häufig bei der durchgreifenden Chlorierung organischer Substanzen bildet. Da Chloranil in Wasser praktisch unlöslich ist (die scheinbare Sättigung liegt etwa bei 1 : 26000), wurden zunächst sehr feine, kolloidalen Lösungen nahestehende Suspensionen

verwandt, welche durch Eingießen von Acetonlösungen in verdünnte, wässerige Gelatine oder Serum hergestellt waren. Diese Suspensionen wirkten bakterizid, und zwar ganz spezifisch auf Staphylokokken, nicht aber auf Koli (vgl. Tabelle I und II). Später fanden wir, daß

Tabelle I.

Chloranil in Gelatine gegen Staphylokokken[1]).

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 1 Proz.	Phenol 1/2 Proz.	aq.
4'	—	—	+	+	+	+	
16	—	—	—	+	—	+	
64	—	—	—	+	—	+	
							+

Tabelle II.

Chloranil in Gelatine gegen B. coli.

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 1 Proz.	Phenol 1/2 Proz.	aq.
4'	+	+	+	+	+	+	
16	+	+	+	+	+	+	
64	+	+	+	+	—	+	
							+

die Gegenwart von „Schutzkolloiden", also Gelatine oder Serum, nicht notwendig ist, indem nämlich feine Aufschlämmungen, die durch sorgfältiges Verreiben hergestellt waren, sich analog verhielten. Da es sich nicht um wahre Lösungen handelt, sind die angegebenen Konzentrationen kein scharfes Maß für die aktive Reaktionsmasse, zeigen aber doch, daß die Wirkung der Suspension über die der gesättigten Lösung hinausgeht. Die nächstliegende Annahme, daß hier eine spezifische Chinonwirkung vorliege, z. B. eine Oxydation, wurde schon durch die weitere Feststellung hinfällig, daß die Chloranilsäure, welche aus Chloranil durch Spaltung unter Wasseraufnahme entsteht, nicht bakterizid wirkte (Tab. III und IV). Die bei höherer Konzentration

O
Cl OH
HO Cl
O

[1]) Spalte *Z* (senkrecht) gibt die Zeitdauer der Einwirkung des Desinfektionsmittels in Minuten an. *c* (wagerecht) gibt die Konzentration in negativen Potenzen von 10 an, derart, daß z. B. 4 einer Verdünnung von $1:10^4$ entspricht.

Tabelle III.

Chloranilsäure gegen Staphylokokken.

Z \ c	2	3	4	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	
16	+	+	+	—	
64	+	+	+	—	
					+

Tabelle IV.

Chloranilsäure gegen Koli.

Z \ c	2	3	4	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	
16	+	+	+	+	
64	+	+	+	—	
					+

auftretenden Effekte waren immer wieder auf Wirkung der freien Säuren zurückzuführen (Tab. V und VI)[1]). Damit steht auch völlig im Einklang, daß die Wirkung der Suspension momentan aufhörte, wenn der letzte Rest des Chloranils infolge der spontan verlaufenden Verseifung verbraucht war. Die gleichen Unterschiede zeigten sich

Tabelle V.

Chloranilsäure, angesäuert auf $p_H = 3$, gegen Staphylokokken.

Z \ c	2	3	4	5	Phenol		aq.
					1 Proz.	1/2 Proz.	
4'	—	—	+	+	+	+	
16	—	—	+	+	—	+	
64	—	—	+	+	—	+	
							+

Tabelle VI.

Chloranilsäure, angesäuert auf $p_H = 3$, gegen B. coli.

Z \ c	2	3	4	5	Phenol		aq.
					1 Proz.	1/2 Proz.	
4'	+	+	+	+	+	+	
16	+	+	+	+	+	+	
64	—	+	+	+	(+)	+	
							+

[1]) Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die Wirkung nicht nur von den Wasserstoffionen, sondern auch von der Natur der Anionen abhängt. Vgl. *Hailer*, Die Desinfektion. Weyls Handb. d. Hyg. 8, 1001 ff., 1922.

Tabelle VII.
Dichlornaphthochinon gegen B. coli.

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 2 Proz.	Phenol 1 Proz.	aq.
4'	+	+	+	+	—	+	
16	+	+	+	+	—	+	
64	+	+	+	+	—	+	
84	—	+	+	+	—	—	
168	—	+	+	+	—	—	+

Tabelle VIII.
Dichlornaphthochinon gegen Staphylokokken.

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 1 Proz.	Phenol 0,5 Proz.	aq.
4'	(+)	+	+	+	+	+	
16	—	+	+	+	—	+	
64	—	—	+	+	—	+	
84	—	—	—	+	—	—	
168	—	—	—	—	—	—	+

Tabelle IX.
Dichlorindenon gegen Koli.

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 1,5 Proz.	Phenol 1 Proz.	aq.
4'	+	+	+	+	—	+	
16	+	+	+	+	—	+	
64	+	+	+	+	—	+	
84	+	+	+	+	—	—	
168	—	+	+	+	—	—	+

Tabelle X.
Dichlorindenon gegen Staphylokokken.

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 1 Proz.	Phenol 0,5 Proz.	aq.
4'	+	+	+	+	+	+	
16	+	+	+	+	—	+	
64	+	+	+	+	—	+	
84	—	—	—	+	—	—	
168	—	—	—	—	—	—	+

in der Naphthalin- und Indenreihe. Dichlornaphthochinon und Dichlorindenon wirkten spezifisch auf Staphylokokken, nicht aber auf Koli, während die entsprechenden Oxyverbindungen nach der Neutralisation in beiden Fällen unwirksam waren. Durch diese Analogie war der allgemeine, aber noch durchaus negative Schluß gegeben, daß weder der Chinonring, noch das gebundene Halogen als strukturelle Basis für die Desinfektionswirkung in Betracht kommen.

Es bestand noch die Möglichkeit, daß die bakterizide Wirkung mit dem Ablauf der Verseifungsreaktion Chloranil → Chloranilsäure + Salzsäure zusammenhing.

Wir untersuchten daher zunächst das Verhalten von Chloranil zu Aminosäuren. Hierbei stellten wir fest, daß Chloranil, das in Wasser namentlich bei Gegenwart von Wasserstoffionen recht beständig ist, beim Schütteln mit Aminosäuren sofort Chloranilsäure bildete, die an ihrer violetten Farbe leicht erkennbar ist. Da diese Beschleunigung trotz der sauren Reaktion der Aminosäuren erfolgte, muß es sich um eine spezifische Wirkung handeln.

Nun gibt es noch andere Verseifungsprodukte des Chloranils, die lediglich in der Patentliteratur beschrieben sind[1]). Sie bilden sich beim Stehenlassen von Chloranil mit Alkali, wenn dessen Menge zur vollständigen Verseifung nicht ausreicht. Es entsteht dann keine Chloranilsäure, sondern braune polymere Substanzen mit ausgesprochenem Gerbstoffcharakter, während gleichzeitig die Flüssigkeit stark sauer wird. Wir haben die Reaktionsprodukte genauer untersucht und festgestellt, daß es sich entgegen den Annahmen der Patentschrift nicht um kolloidales Chloranil, sondern um ein Produkt handelt, das die Zusammensetzung eines Trioxychlorchinons besitzt. Diese Verseifung verläuft also ebenfalls unter spontaner Bildung freier Säure über die Chloranilsäure hinaus. Bei der Einwirkung von Aminosäuren haben wir in der Hauptsache Chloranilsäure festgestellt, während sich bei Gegenwart von Proteinen mehr die polymeren Produkte bildeten, die übrigens als Desinfiziens unwirksam waren (Tab. XI und XII).

Tabelle XI. Trioxychlorchinon gegen Staphylokokken.

Z \ c	2	3	4	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	
4	+	+	+	—	
16	+	+	+	—	
64	+	+	+	—	
					+

Tabelle XII. Trioxychlorchinon gegen Koli (Chloranil *Renner*).

Z \ c	1	2	3	4	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	+	
16	+	+	+	+	—	
64	+	+	+	+	—	
						+

[1]) D. R.-P. Nr. 353076 der Gerb- und Farbstoffwerke Renner.

So einfach der qualitative Nachweis der Verseifung durch Aminosäuren war, so große Schwierigkeiten bereitete uns die quantitative Feststellung der Beschleunigung. Die Titration war für den Nachweis der Anfangswirkung, die für den Desinfektionseffekt allein in Frage kommt, zu unempfindlich. Schließlich gelang es, durch Bestimmung der Leitfähigkeit von Chloranilsuspensionen und deren Beeinflussung durch Zusätze einigermaßen exakte Zahlen zu erhalten. Es zeigte sich tatsächlich, daß bei der Berührung des Chloranils mit wässerigen Lösungen von Aminosäuren die Verseifung sprunghaft einsetzte. In gleicher Weise verhielten sich auch Harnstoff und Ammonsalze. Im experimentellen Teil sind die Zahlen für Harnstoff, Leucin und Leucylglycin angegeben. Bei den Proteinen versagte die Methode. Soweit die kolorimetrische Probe als beweisend betrachtet werden kann, zersetzte Pferdeblutserum auch bei gleichem p_H rascher als Gelatine. Jedoch hielt sich die Reaktion in den Grenzen, daß die Untersuchung der bakteriziden Wirkung nicht behindert wurde.

Hing nun die Abtötung mit dem Verseifungsvorgang bzw. mit der entstehenden Säure zusammen, so mußte die Empfindlichkeit gegen Chloranil und Säuren zusammenfallen. Dies ist in der Tat der Fall. Es wurde eine große Anzahl von Staphylokokken- und Kolistämmen verschiedenster Herkunft untersucht und immer wieder festgestellt, daß die Staphylokokken säureempfindlicher sind als die Koli. Typisch sind die Tab. XIII und XIV.

Tabelle XIII.

HCl gegen Staphylokokken.

Z \ c	n/10	n/100	n/1000	n/10000	Phenol		aq.
					1 Proz.	0,5 Proz.	
4'	—	(+)	+	+	(+)	+	
16	—	—	(+)	+	—	+	
64	—	—	—	+	—	+	
84	—	—	—	+	—	(+)	
168	—	—	—	+	—	—	+

Tabelle XIV.

HCl gegen B. coli.

Z \ c	n/10	n/100	n/1000	n/10000	Phenol		aq.
					1,5 Proz.	1 Proz.	
4'	—	+	+	+	—	+	
18	—	+	+	+	—	—	
64	—	+	+	+	—	—	
84	—	+	+	+	—	—	
168	—	—	+	+	—	—	+

Bei der Verseifung wird man wohl primär eine Anlagerung annehmen müssen, der rasch wieder die Spaltung unter Bildung von Säure folgt. Da diese Reaktion sich nun in unmittelbarer Berührung mit dem angegriffenen Organismus abspielt, ist die Konzentration der Säure sehr hoch im Vergleich zur umgebenden Lösung. Es ist daher verständlich, daß zunächst die Suspension wirksamer ist als die gesättigte Lösung, da die festen Teilchen unmittelbar in Reaktion treten, und daß weiter der Effekt sogar bei Gegenwart von Gelatine und Serum auftritt, welche in der Lösung die Vermehrung der Wasserstoffionen abpuffern mußten. Ebenso klar ist die Ursache des völlig verschiedenen Verhaltens von Chloranil und Chloranilsäure, das sich in der Naphthalin- und Indenreihe wiederfindet.

Man kann daher mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit den Schluß ziehen, daß das wirksame Agens die freie Säure ist, welche durch die chlorierten Chinone in unmittelbare Berührung mit dem Organismus gebracht wird. Bekanntlich bewirken Säuren Quellung, so daß jedenfalls neben einer spezifischen Empfindlichkeit auch die weitere Möglichkeit besteht, daß die Quellung die Abtötung verursacht.

Damit ist der zunächst überraschende Unterschied zwischen Chloranil und Chloranilsäure verständlich geworden und die gleichen Erscheinungen in der Naphthalin- und Indenreihe.

Während nun das Tetrachlorchinon bisher als Desinfiziens nie erwähnt worden ist, finden sich in der Literatur einige Hinweise auf das einfachste Chinon, das Benzochinon. Danach wirkt es intensiv auf Typhus (1 : 16000 in 15 Minuten)[1]), auch wird die verstärkte Wirkung alter Phenollösungen auf die Bildung von Chinon zurückgeführt. Eingehende Untersuchungen liegen nicht vor, so daß das Chinon weder praktisch noch theoretisch in der Desinfektion eine Rolle spielt. Als nun das Verhalten des Chinons gegenüber Koli und Staphylokokken geprüft wurde, zeigte sich das umgekehrte Bild wie bei Chloranil, indem nämlich die Koli weit empfindlicher waren als die Staphylokokken (Tab. XV und XVI).

Tabelle XV.
Chinon gegen Staphylokokken.

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	+	
16	+	+	+	+	—	
64	—	+	+	+	—	
						+

[1]) *Talhimer* und *Palmer*, Journ. of inf. dis. 9, 172, 1911.

Tabelle XVI.

Chinon gegen Koli.

Z \ c	3	4	5	6	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	+	
16	—	—	+	+	+	
64	—	—	—	+	—	
						+

Zur Aufklärung dieser spezifischen Wirkung war zunächst die Vorfrage zu behandeln, wie das Chinon auf Bakterien überhaupt einwirkt, ob es sich um eine allgemeine chemische Wirkung, wie z. B. eine Oxydation oder um die Bildung einer chemischen Verbindung oder schließlich um rein physikalische Erscheinungen handelt. Erst im Anschluß hieran konnte festgestellt werden, worin die Folge dieser Einwirkung für den angegriffenen Organismus besteht.

Am nächsten lag die Annahme einer Oxydation, nachdem W. *Traube*[1]) die Oxydation von Aminosäuren durch Chinon und ihren Abbau zu Aldehyd und Ammoniak festgestellt hat. Die Untersuchung der Chinonhomologen zeigte jedoch, daß die Wirkung mit der Zahl der Substituenten abnahm. Während bei Toluchinon der Effekt noch sehr deutlich war, wirkte Dimethylchinon nur noch schwach, und Tetramethylchinon war überhaupt nicht bakterizid. Dies schloß eine rein oxydierende, auf dem Chinonring beruhende Wirkung aus, sprach aber für die Bildung chemischer Verbindungen nach Art der Anilidochinone. Diese bilden sich aus Chinon und Anilin, und zwar treten je nach den Bedingungen ein oder zwei Anilinreste in den Chinonkern ein[2]). Die Voraussetzung für ihre Bildung ist also das Vorhandensein nur mit Wasserstoff besetzter Stellen im Chinonring. Wir suchten zunächst vergeblich die Existenz analoger Verbindungen mit Aminosäuren festzustellen und erhielten stets braune, verharzte Produkte. Augenscheinlich ist die Carboxylgruppe die empfindliche Stelle, denn *Fischer* und *Schrader*[3]) haben unter Anwendung der Ester Verbindungen dargestellt, bei denen zwei Aminosäureester in den Chinonring eingetreten sind. Als Analoga zu den Proteinen sind aber diese Ester wegen ihres stark basischen Charakters nicht verwendbar. Wir nahmen daher an ihrer Stelle die Anilide, speziell das Glykokollanilid, das nur ganz schwach basische Eigenschaften besitzt und sich in mehr-

[1]) B. **44**, 3145, 1911.

[2]) *Suida*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, H. 7/6, S. 308 bis 323.

[3]) B. **43**, 525, 1910.

facher Beziehung als einfaches Analogon zu den Proteinen bewährt hat. Es wurden so die folgenden Verbindungen kristallisiert hergestellt:

$NHCH_2CONHC_6H_5$

O
$NHCH_2CONHC_6H_5$
CH_3
O

O
$NHCH_2CONHC_6H_5$.
O

Damit war zunächst erwiesen, daß mit neutralen oder schwach basischen Abkömmlingen von Amidosäuren die Substitution nur an einer Stelle des Chinonringes erfolgt, auch wenn deren zwei zur Verfügung stehen. Bei Proteinen war die Untersuchung der Reaktionsprodukte selbst von vornherein aussichtslos. Dagegen bestand die Möglichkeit, durch quantitative Verfolgung des Reaktionsverlaufs Einblick in die Konstitution der entstandenen Verbindungen zu erhalten. Aus der Menge des gebundenen Chinons und des gleichzeitig entstehenden Hydrochinons läßt sich nämlich der Substitutionstypus ermitteln, entsprechend den beiden Gleichungen:

$$2\,C_6H_4O_2 + NH_2R = C_6H_3O_2\,(NHR) + C_6H_6O_2 \qquad (1)$$

$$3\,C_6H_4O_2 + 2\,NH_2R = C_6H_2O_2\,(NHR)_2 + 2\,C_6H_6O_2. \qquad (2)$$

Unter der Voraussetzung, daß die reine Oxydationsreaktion nicht stattfindet, müssen bei der Bildung des Disubstitutionsproduktes also auf drei verbrauchte Chinonmoleküle zwei Hydrochinone entstehen, bei der Bildung des Monosubstitutionsproduktes dagegen wird nur die Hälfte des verbrauchten Chinons in Hydrochinon verwandelt. Durchführbar ist die Methode nur bei Benutzung eines in Wasser unlöslichen Proteins, das gleichzeitig genügend Oberfläche und Durchlässigkeit besitzt, um mit der wässerigen Lösung rasch zu reagieren. Diesen Ansprüchen genügte das Hautpulver, das allgemein zur Prüfung von Gerbstoffen benutzt wird. Es wird durch Zerreißen von Haut hergestellt und von der Gerbereiversuchsanstalt in Freiberg (Sachsen) bezogen. Es sollte gleichzeitig als Modell für die Bakterien dienen, um für die Ausarbeitung der Methode ein leicht zugängliches Ausgangsmaterial zu haben. Die titrimetrische Bestimmung — Oxydation von Jodwasserstoff durch Chinon und Reduktion von Jod in Bicarbonatlösung durch Hydrochinon — gaben die folgenden ganz eindeutigen Resultate:

In schwach saurer Lösung ($p_H = 4$) reagierte das Chinon ausschließlich nach der Gleichung (1), indem also jedesmal nur eine primäre Amidogruppe in den Chinonkern eintrat. In neutraler Lösung ist das Chinon sehr unbeständig; es bildet braune Polymerisationsprodukte, welche sich vom Oxychinon und Dioxychinon ableiten, und verliert damit seine Kuppelungsfähigkeit[1]). In alkalischer Lösung erfolgt die Zersetzung sofort unter späterer spontaner Ansäuerung. Damit steht die Wandlung der bakteriziden Eigenschaft in vollem Einklang: Die Wirkung auf Koli verschwindet, während sie bei Staphylokokken langsam einsetzt (Tabellen XVII und XVIII).

Tabelle XVII.

Chinon durch Alkali zersetzt gegen Staphylokokken.

Z \ c	2	3	4	5	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	—	
16	—	+	+	+	—	
64	—	+	+	+	—	
						+

Tabelle XVIII.

Chinon durch Alkali zersetzt gegen Koli.

Z \ c	2	3	4	5	6	Phenol 1 Proz.	aq.
1'	+	+	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	+	+	
16	+	+	+	+	+	—	
64	+	+	+	+	+	—	
							+

Die quantitative Methode wurde nun auf Bakteriensuspensionen angewandt, die in Bouillon gezüchtet und durch Zentrifugieren und Decken von fremden Bestandteilen soweit als möglich befreit worden waren. Die Kolisuspensionen färbten sich in der Berührung mit Chinonlösung nach kurzer Zeit rot, ein Zeichen, daß die Kuppelung rasch eintrat, und die quantitative Bestimmung des gebundenen Chinons wie des gebildeten Hydrochinons ergaben, daß die Reaktion in gleicher Weise verlaufen war wie beim Hautpulver, daß also jedesmal nur eine Amidogruppe in den Chinonkern eingetreten war. Damit war die Identität des Reaktionsverlaufes für Bakterien und Hautpulver er-

[1]) Die Einzelheiten dieser Untersuchung siehe *Hilpert* und *F. Brauns*, Über Chinongerbung, Collegium, 1925.

wiesen, so daß man an letzterem gewissermaßen als Modell die Veränderungen verfolgen kann, welche durch die Reaktion mit Chinon bedingt sind.

Die Einwirkung des Chinons auf die tierische Haut ist nun schon seit längerer Zeit in ganz anderem Zusammenhang diskutiert worden. Seit einigen Jahren ist nämlich das Chinon von *Meunier* und *Seyewitz*[1]) in die Gerberei eingeführt worden, wo es wegen seiner einfachen Konstitution besonders in theoretischer Hinsicht Aufsehen erregt hat. Damit ist die Fragestellung für die bakterizide und die gerbende Wirkung des Chinons identisch geworden. Bisher wurde die Frage von gerbereichemischer Seite im wesentlichen auf kolloidchemischer Basis behandelt. Nach den oben stehenden Ausführungen muß aber als nachgewiesen betrachtet werden, daß primär jedenfalls eine chemische Reaktion stattfindet, und es erscheint doch richtig, die Änderung des kolloidalen Zustandes erst als Folge dieser chemischen Reaktion aufzufassen. Rein äußerlich zeigt sie sich darin, daß die Haut nach dem Trocknen nicht durchsichtig wird. Die Fibrillen kleben nicht mehr zusammen, sondern bleiben gegenseitig verschiebbar.

Es ist nun sehr wahrscheinlich, daß hierbei chemisch gebundenes Wasser in Imbibitionswasser übergeführt wird. Aber der endgültige Nachweis ist außerordentlich schwer zu erbringen. Wir bestimmten zunächst die Dampfdrucke über Haut vor und nach der Behandlung mit Chinon. In Abb. 1 sind die Gewichtszunahmen in gesättigtem Wasserdampf bei Zimmertemperatur wiedergegeben. Aber es mußte weiter festgestellt werden, daß auch andere Gerbstoffe und sogar die Behandlung mit Alkohol denselben Effekt hatten. Auch bei dieser scheinbar reversiblen Gerbung müssen also doch tiefgreifende Veränderungen stattfinden. Die Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten, die auf Anregung von Herrn Prof. *von Baeyer* erfolgte, deutet auch auf die Verminderung des gebundenen Wassers hin. Diese Fragen werden augenblicklich an verschiedenen anderen Stellen bearbeitet, ohne der Lösung näher gebracht worden zu sein.

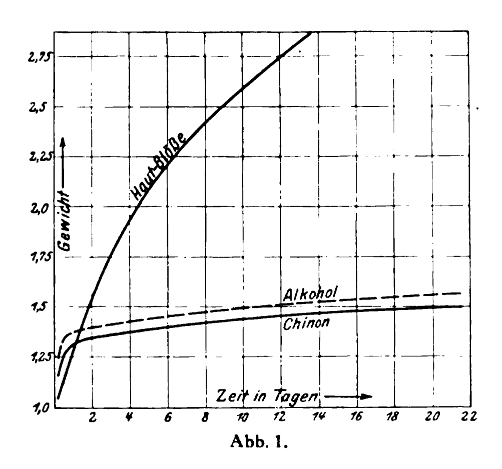


Abb. 1.

[1]) C. r. **146**, 987, 1908.

Säuren bewirken bekanntlich die Quellung der Proteine. Nach unserer Ausgangshypothese ist die primäre Amidogruppe die wesentliche Trägerin dieser Erscheinung. Hierfür spricht jedenfalls auch die von uns aufgefundene Tatsache, daß die mit Chinon behandelte Haut ihr Quellungs- und Entquellungsvermögen weitgehend verloren hat.

Charakteristisch für das Chinon ist jedenfalls seine außerordentliche Diffusionsgeschwindigkeit, welche es eine z. B. 1 cm dicke Rindshaut an einem Tage durchdringen läßt. Diese Geschwindigkeit ist um so geringer, je wasserärmer die Haut ist.

Überträgt man nun diese Erörterung auf Bakterien, so kann man schließen, daß die Koli jedenfalls eine Haut besitzen, welche sehr reich an primären Amidogruppen und gleichzeitig sehr wasserreich ist. Dafür spricht zunächst die rasche Angreifbarkeit und die Schnelligkeit der Wirkung. Umgekehrt scheint die Haut der Staphylokokken arm an primären Amidogruppen und jedenfalls wasserarm zu sein. Dies entspricht der geringen Angreifbarkeit sowie der Tatsache, daß der Anfangseffekt sehr gering ist, während nach etwa einer Stunde, entsprechend der geringen Diffusionsgeschwindigkeit, die Abtötung erfolgt.

Aus der Tatsache, daß auch bei Staphylokokken der Verlauf der Reaktion in dem gleichen Sinne quantitativ nachgewiesen werden konnte wie bei Koli, läßt sich jedenfalls schließen, daß auch bei ihnen Proteine als Hauptbestandteile in Frage kommen. Unter diesen Gesichtspunkten wird nun doch das Verhalten der beiden Baktereinarten gegen Chloranil verständlich[1]). Die Koli vermögen durch die vielen freien Amidogruppen die Säure abzupuffern und sind infolge ihrer wasserreichen Hülle gegen Quellung unempfindlich, während das wasserarme Protein der Staphylokokken bei der Quellung so sehr den inneren Bau des Organismus in Mitleidenschaft zieht, daß die Abtötung eintritt. Leider war experimentell an Hautpulver die Quellung durch Chloranil nicht scharf genug festzustellen, da bei Anwendung der notwendigen größeren Mengen von Chloranil die polymeren Verbindungen entstehen, die sich sofort auf dem Hautpulver niederschlagen und jede Quellung verhindern. Bei Anwendung ganz verdünnter Suspensionen konnten wir zwar geringe Quellung feststellen, aber die Methoden sind für bestimmte Schlüsse noch zu ungenau.

[1]) Die Koli sind selbst Säurebildner und schon dadurch jedenfalls unempfindlicher. Es ergibt sich so eine einfache Erklärung für die Tatsache, daß die Koli im Darm gegen die Wirkung der Tryptasen geschützt sind, die im sauren Gebiet wirkungslos sind. Versuche zeigten, daß dagegen abgetötete Koli durch Tryptasen sofort aufgelöst werden, während abgetötete Staphylokokken nicht oder nur langsam angegriffen wurden.

Die Giftwirkung des Chinons selbst ist eine ganz allgemeine sowohl für niedere wie für höhere Organismen. Sie ist auch verständlich dadurch, daß das Protein zunächst seinen Basizitätsgrad vollständig ändert und seine Quellungsfähigkeit verliert.

Schließlich ergeben sich auch für eine etwaige Rolle der Lipoide gewisse Folgerungen. Chinon ist sowohl wasser- als auch lipoidlöslich. Für die Diffusion selbst sind die Lipoide keine notwendige Voraussetzung. Das Chinon diffundiert in Gelatinegallerte noch rascher als in tierischer Haut. Wenn nun bei dem Protoplasma der Koli nicht die Proteine, sondern die Lipoide den Transport des Chinons übernehmen würden, so müßte dies noch viel mehr der Fall sein beim Chloranil, das in Wasser so gut wie unlöslich, dagegen in Lipoiden löslich ist. Umgekehrt wäre es nicht verständlich, daß bei den Staphlyokokken die Lipoidphase lediglich das Chloranil und nicht auch das Chinon übernähme. Aus allen diesen Gründen muß man schließen, daß in beiden Fällen die Lipoide an dem Transport und der Reaktion nicht teilnehmen. Man kann sich hiervon sogar durch einen einfachen Versuch überzeugen. Behandelt man Hautpulver, das zur Entfettung mit Äther gründlich extrahiert worden ist, mit Chinonlösung, so wird es sehr viel schneller und intensiver angegriffen als ein nicht entfettetes Hautpulver. Man kann also unmöglich hieraus den Schluß ziehen, daß das Fett für den Angriff bzw. die rasche Diffusion die notwendige Voraussetzung bildet.

Es wird vielleicht auffallen, daß in den vorstehenden Ausführungen der Kreis der untersuchten Mikroorganismen so eng begrenzt worden ist. Diese Beschränkung ist absichtlich erfolgt, denn es wird notwendig sein, jede einzelne Art für sich in ihrem Verhalten zu untersuchen. Zu welchen falschen Schlüssen man kommen kann, wenn man nur allgemeine Gesichtspunkte verfolgt, zeigt eine Übertragung der Regel, daß substituiertes Chlor die Wirkung eines Desinfiziens verstärke, auf die Chinone. Es ist im Gegenteil gezeigt worden, daß zwei chemisch sich so nahe stehende Stoffe als Desinfiziens völlig verschieden arbeiten. Für eine gründliche Durchforschung dieses Gebietes erscheint doch der Weg am richtigsten, zunächst systematisch die chemischen Reaktionen zu verfolgen und erst dann die Schlußfolgerungen allgemeiner Geltung zu ziehen.

Experimenteller Teil.

1. Methode der bakteriologischen Prüfung.

Über die bakteriologischen Untersuchungen wird Herr Dr. *Paneth*, der diese Arbeiten zum großen Teil geleitet hat, an anderer Stelle berichten. Hier soll nur kurz die Methodik geschildert werden:

Die Verdünnungen des zu prüfenden Mittels werden mit destilliertem Wasser hergestellt und in Mengen von je 2 ccm in Reagenzgläser gefüllt[1]).

[1]) Wasser, Reagenzgläser usw. sind durchweg als *steril* zu verstehen.

Zu den Bakterienabschwemmungen werden 24stündige Agarkulturen verwendet. Die Abschwemmung erfolgt mit destilliertem Wasser, die richtige Dichte der Aufschwemmung wird durch Vergleich mit einer Standard-Mastix-Aufschwemmung erzielt, die so eingestellt ist, daß ein Röhrchen von 1½ cm Durchmesser noch eben durchscheinend ist. Ganz ungefähr entspricht dies einer Dichte von 1 Millarde Keimen auf ein Kubikzentimeter. Von dieser Aufschwemmung wird je 1 Tropfen der Verdünnungen des zu prüfenden Mittels zugesetzt und sofort kräftig umgeschüttelt. Nach entsprechenden Zeiten erfolgt die Ausimpfung von je einer Öse der Desinfektionsmittel-Bakterien-Mischung in je 10 ccm Bouillon; die verwendete Platinöse hat 2 mm im Durchmesser. Die Bouillon ist auf eine Alkalität von $p_H = 7{,}3$ eingestellt. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C erfolgt die Ablesung, wobei auch ganz schwaches Wachstum (nach entsprechender Identifizierung) als positiv gilt.

2. Versuche zum Nachweis der Einwirkung von Leucin, Leucylglycin und Harnstoff auf Chloranilsuspensionen.

Unter der Voraussetzung, daß die Leitfähigkeit einer Chloranilsuspension lediglich von den entstandenen Verseifungsprodukten (Chloranilsäure und Salzsäure) herrührt, wurde eine Lösung von 1 Mol Chloranilsäure + 2 Mol Salzsäure hergestellt und ihre Leitfähigkeit bei verschiedenen Konzentrationen gemessen. Setzt man zu einer solchen Lösung eine Aminosäure oder Harnstoff, so tritt ein erheblicher Rückgang der Leitfähigkeit ein (Bindung der H-Ionen durch die basische Gruppe der Aminosäure). Die Kurve, die man erhält, wenn man die Leitfähigkeit der Chloranilsäure-Salzsäurelösung wechselnder Konzentration nach dem Versetzen mit jeweils derselben Menge Aminosäure mißt, liegt also unterhalb der Kurve für reine Lösung.

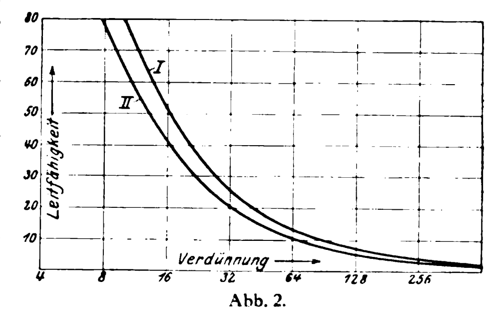


Abb. 2.

Kurve 1 von Abb. 2 gibt die Abhängigkeit der Leitfähigkeit einer Lösung von 1 Mol Chloranilsäure + 2 Mol Salzsäure mit der Verdünnung an.

Kurve 2 gibt die Abhängigkeit der Leitfähigkeit einer Mischung dieser Lösung mit einer bestimmten Menge Aminosäure von der Verdünnung an. Sie ist für jede Aminosäure und innerhalb einer einzelnen Aminosäure für jede Konzentration verschieden. Experimentell bestimmt wurde sie für 25 Proz. Harnstoff, 0,1 Proz. Leucin und 0,1 Proz. Leucylglycin.

Gibt man nun zu einer Chloranilsuspension von bestimmter Leitfähigkeit, deren Gehalt an Chloranilsäure und Salzsäure man unschwer aus Kurve I ermitteln kann, eine bestimmte Menge Aminosäure oder Harnstoff, so tritt — statt der erwarteten Erniedrigung — eine Steigerung der Leitfähigkeit ein. Unter der Voraussetzung, daß Chloranilsäure und Salzsäure die allein in einer Chloranilsuspension elektrolytisch wirksamen Bestandteile sind, hätte man eine Erniedrigung der Leitfähigkeit erwartet. Dieser Effekt wird aber von einem anderen überdeckt: von der Entstehung weiterer Mengen Salzsäure + Chloranilsäure. Man bewegt sich nun auf

Zunahme einer Chloranilsuspension an Chloranilsäure und Salzsäure durch 2 Minuten lange Einwirkung von Aminosäure bei 37° C.

	Chloranilsuspension allein	Nach Zusatz von 2 Proz. Harnstoff	Chloranilsuspension allein	Nach Zusatz von 0,1 Proz. Leucin	Chloranilsuspension allein	Nach Zusatz von 0,1 Proz. Leucylglycin
Gehalt an Chloranilsäure in mg pro Liter	1,98—2,21	2,77—3,08	·2,75—2,98	5,71—6,00	2,90—3,16	10,0—10,9
Gehalt an Salzsäure in mg pro Liter	0,69—0,77	0,97—1,10	0,96—1,04	1,99—2,09	1,01—1,10	3,5— 3,8
Gehalt an Chloranilsäure und Salzsäure in g-Äquiv. pro Liter	1,8—2,1 . 10^{-5}	2,6—2,9 . 10^{-5}	2,6—2,8 . 10^{-5}	5,4—5,7 . 10^{-5}	2,7—3,0 . 10^{-5}	9,6—10,4 . 10^{-5}
Zunahme an Chloranilsäure in mg pro Liter	—	0,81	—	2,99	—	7,37
Zunahme an Salzsäure in mg pro Liter	—	0,30	—	1,04	—	2,60
Zunahme an Chloranilsäure und Salzsäure in g-Äquiv. pro Liter	—	0,8 . 10^{-5}	—	2,8 . 10^{-5}	—	7,15 . 10^{-5}

Kurve II und kann auf ihr den neuen Gehalt an Chloranilsäure und Salzsäure ermitteln.

In dieser Weise wurden die Resultate der nebenstehenden Tabelle gewonnen. Sie gibt den Gehalt der angewandten Chloranilsuspension an Chloranilsäure und Salzsäure vor und nach 2 Minuten langer Einwirkung der angegebenen Menge Aminosäure oder Harnstoff bei 37° an, sowie die aus den Mitteln berechnete Zunahme.

Der Zeitraum der Beobachtung wurde im Hinblick auf Desinfektionswirkungen so kurz als möglich gewählt, konnte aber mit Rücksicht auf die erforderliche Temperaturkonstanz der Messungen nicht unter 2 Minuten herabgedrückt werden.

Die Temperatur von 37° ist die des lebenden Organismus.

Die Messungsgenauigkeit ist bedingt durch das bei hohen Widerständen weniger scharfe Tonminimum der Brückeneinstellung. Sie beträgt durchschnittlich ± 10 Proz. Die angegebenen Werte entsprechen den oberen und unteren Grenzen der beobachteten Leitfähigkeit.

Es wurden nur leicht lösliche Aminosäuren gewählt, um die Widerstandskapazität des Leitfähigkeitsgefäßes nicht durch unlösliche Substanzen, die sich zwischen die Elektroden setzen, zu verändern.

Die Chloranilsuspensionen wurden hergestellt, indem 12,4 g fein gepulvertes Chloranil mit 1000 ccm

Wasser in einem ausgedämpften Gefäß eine Viertelstunde lang bei Zimmertemperatur geschüttelt wurden, hierauf wurde durch öfters gewechselte Faltenfilter filtriert.

Aus Kurve I läßt sich auch der Gehalt einer Chloranilsuspension an Chloranil ermitteln, wenn man diese bis zur Konstanz der Leitfähigkeit erwärmt. Dieser Zustand war bei einem Versuch nach 73 Stunden eingetreten. Aus der gemessenen Leitfähigkeit und der Kurve I ergab sich eine scheinbare Löslichkeit des Chloranils bei Zimmertemperatur von 1 : 26000.

3. *Polymere Verseifungsprodukte des Chloranils.*

Die nach der Patentvorschrift von *Renner* durch Versetzen einer Aufschlemmung von Tetrachlorchinon in Wasser mit unzureichenden Mengen Alkali entstandene braune Lösung wird der Dialyse unterworfen. Im Außenwasser lassen sich neben einer Spur von Chloranilsäure reichliche Mengen von Chlorionen nachweisen. Das Innendialysat wurde mit Bleiacetat gefällt und der Niederschlag nach dem Auswaschen mit Wasser durch Schwefelsäure zersetzt. Nach dem Abzentrifugieren des ausgeschiedenen Sulfats wurde die braune Lösung durch Dialyse gereinigt. Das durch Eindampfen der Lösung erhaltene Produkt war aschefrei und wurde nach dem Trocknen im Vakuum zur Analyse verwandt. Es enthielt 18,4 Proz. Chlor, also weit weniger als Chloranil (57,5 Proz.) und sogar weniger als Chloranilsäure (35 Proz.). Die Zusammensetzung entspricht also etwa einem Monochlordioxychinon.

4. Chinon und Glykokollanilid. 1,08 g Chinon wurden in 100 g Wasser gelöst und dazu eine Lösung von 1,5 g Glykokollanilid in 50 ccm Wasser hinzugefügt. Die Lösung färbte sich dunkelbraun und nach kurzer Zeit schied sich ein tiefbrauner Niederschlag ab. Dieser wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und nach dem Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 78° zur Analyse gebracht.

0,1722 g Substanz gaben 16,3 ccm Stickstoff bei 23° 764 mm über 50 Proz. KOH.

0,1313 g Substanz gaben 0,3167 g CO_2, 0,0600 g H_2O.

Für $C_{14}H_{12}O_3N_2$ 256,12 (Chinonmonoglykokollanilid):

ber.	C 65,60,	H 4,72,	N 10,94 Proz.
gef.	C 65,79,	H 5,11,	N 10,93 „

5. Reaktion zwischen Hautpulver und Chinon. 2 g Chinon wurden in 350 ccm Wasser und 50 ccm 5 n Schwefelsäure gelöst und 10 ccm davon titriert. Sie verbrauchten 9,00 ccm n/10 Thiosulfat. Dann wurden 10 g Hautpulver zugefügt und auf der Maschine geschüttelt. Es trat erst nach längerer Zeit Anfärbung des Hautpulvers ein. Nach verschiedenen Zeiten wurde ein Teil der Lösung durch ein trockenes Filter filtriert und je 10 ccm des Filtrats in der Weise titriert, daß zunächst das unverbrauchte Chinon (a) bestimmt wurde und in einer anderen Portion das gebildete Hydrochinon (b). In den titrierten Lösungen von a wurde dann das gesamte Hydrochinon (c) bestimmt, d. h. also sowohl das bei der Titration aus dem unverbrauchten Chinon gebildete, als auch das während des Gerbvorganges entstandene Hydrochinon. Ebenso wurde aus der titrierten Lösung von b das gesamte Chinon (d), d. h. das unverbrauchte und das bei der Titration mit Jod aus dem Hydrochinon entstandene Chinon bestimmt. Nach 5 Tagen wurden 10 ccm der filtrierten Lösung titriert. Sie verbrauchten:

a) 5,00 ccm n/10 Thiosulfatlösung, verbrauchtes Chinon in 10 ccm Lösung 0,0216 g.
b) 1,9 ccm n/10 Jodlösung, gefundenes Hydrochinon 0,0104 g.
c) 7,2 ccm n/10 Jodlösung, gesamtes Hydrochinon 0,0396 g.
d) 7,12 ccm n/10 Thiosulfatlösung, gesamtes Chinon 0,0385 g.

Nach 14 Tagen:

a) 1,1 ccm n/10 Thiosulfatlösung, verbrauchtes Chinon in 10 ccm Lösung 0,0426 g.
b) 4,08 ccm n/10 Jodlösung, gefundenes Hydrochinon 0,0224 g.
c) 5,2 ccm n/10 Jodlösung, gesamtes Hydrochinon 0,0276 g.
d) 5,2 ccm n/10 Thiosulfatlösung, gesamtes Chinon 0,0271 g.

Es wurde also für jedes Molekül verbrauchtes Chinon ein halbes Molekül Hydrochinon gebildet.

6. Einwirkung von Chinon auf Kolibakterien. Zu einer Aufschlemmung von gut ausgewaschenen Kolibakterien in 33 ccm Wasser wurden 0,1087 g Chinon zugegeben und auf der Maschine geschüttelt. Die Bakterien nehmen sehr schnell eine dunkel rotbraune Färbung an. Nach 3 Tagen wird abzentrifugiert. 10 ccm der rotbraunen Lösung wurden in einen Claisenkolben pipettiert und mit 50 ccm Wasser versetzt. Das unverbrauchte Chinon wurde im Vakuum mit Wasserdampf unter guter Kühlung der Vorlage abdestilliert in der Weise, daß zunächst bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand nach Zugabe von weiteren 50 ccm Wasser nochmals destilliert wurde. Während der Destillation wurde ein Wasserstoffstrom durchgeleitet. Im Destillat ließ sich das unverbrauchte Chinon (a) titrieren. Im Kolbenrückstand blieb das Hydrochinon kristallisiert zurück. Seine Lösung zeigte zwar noch eine violette Farbe, die jedoch bei der Titration mit Jod nicht störte.

10 ccm verbrauchten:

I. a) 0,7 ccm n/10 Thiosulfat, verbrauchtes Chinon 0,0922 g.
   b) 2,2 ccm n/10 Jodlösung, gefundenes Hydrochinon 0,0480 g.

II. a) 0,77 ccm n/10 Thiosulfat, verbrauchtes Chinon 0,0909 g.
   b) 2,15 ccm n/10 Jodlösung, gefundenes Hydrochinon 0,0490 g.

Bei den Arbeiten waren die folgenden Herren beteiligt:

bei den physikalisch-chemischen Untersuchungen unter Leitung von Herrn Dr. *E. Schlumberger* die Herren Dr. *von Steiger* und Dr. *Hausen*,

bei den chemischen Herr Dr. *Brauns* unter Mitarbeit von Herrn Dr. *Schütze*,

bei den biologischen und bakteriologischen Untersuchungen die Herren Dr. med vet. *J. Carl* und Dr. *Pollinger*.

Über eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln: Chlorierte hochmolekulare Sulfosäuren.

Von

Siegfried Hilpert (Berlin).

(Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium der Königsberger Zellstoff-Fabriken und Chemischen Werke Koholyt Aktiengesellschaft, Berlin.)

(Eingegangen am 23. September 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Den Anlaß zur vorliegenden Arbeit gab die Feststellung, daß eine durch intensive Chlorierung von Sulfitablauge erhaltene Substanz bakterizide Eigenschaften besaß. Aus dem ganzen Verhalten dieser Substanz schlossen wir, daß das in ihr wirksame Prinzip aus dem Rahmen der bisher bekannten Desinfektionsmittel herausfallen müsse. Welcher Art es war, dafür fehlten jegliche Anhaltspunkte. Vor allem waren chemische Überlegungen dadurch erschwert, daß die Konstitution des Lignins, das den wesentlichen Bestandteil der Sulfitablauge ausmacht, unbekannt ist. Zu den auffallenden äußeren Eigenschaften dieser chlorierten Sulfitlauge gehörte die kolloidale Beschaffenheit der wässerigen Lösung. An diese knüpften sich auch unsere ersten Versuche. Das Verhalten gegen Filtrierpapier, die Wanderung im elektrischen Felde zeigen, daß es sich um ein stark negativ geladenes Kolloid handelte, das Leim fällte und mit tierischer Haut Leder ergab, die den mit Vegetabilien erzeugten Ledern völlig glichen. In alkalischer Lösung blieb die Leimfällung aus und ebenso verschwand auch der bakterizide Effekt. Wir hatten nun folgende einfache Arbeitshypothese:

Das Protein der Bakterien ist in saurer Lösung elektropositiv und wird durch elektronegative Kolloide ausgefällt. Die dadurch herbeigeführte Entladung bzw. Agglutinierung bedeutet den Tod des Mikroorganismus. Diese Hypothese war aber falsch. Zunächst fanden wir, und zwar in Übereinstimmung mit der Literatur, daß fast alle untersuchten Bakterien negativ geladen waren. Diese Tatsache ist an sich durchaus verständlich, wenn man berücksichtigt, daß die Hüllen

semipermeabel und die Stoffwechselprodukte sicherlich zum Teil sauer sind. Weiter stellten wir fest, daß die Ladung mit dem Leben nichts zu tun hat oder nicht bedingend verknüpft ist, daß z. B. Bakterien entladen und sogar umgeladen werden konnten, ohne ihre Lebensfähigkeit einzubüßen[1]).

Da nun gleichzeitig Kolloide und Bakterien, die sich gegenseitig ausfällen, auch negativ geladen sind, erwies sich dieser Weg zum Verständnis als völlig ungangbar. Wir untersuchten daher zunächst eine Reihe einfacher Substanzen, denen eine Analogie mit der chlorierten Sulfitablauge zugesprochen werden konnte. Am nächsten kommt ihr in den chemischen Eigenschaften das Tetrachlorchinon oder Chloranil, das sich oft bei energischer Chlorierung aromatischer Verbindungen bildet. Hieraus ergaben sich die Untersuchungen über Tetrachlorchinon und Chinone, welche in einer besonderen Arbeit zusammengefaßt sind[2]). Das für die chlorierte Sulfitablauge wesentliche Ergebnis ist die Tatsache, daß Chloranil bakterizide Eigenschaften besitzt, und daß die Wirkung wahrscheinlich auf die bei seiner Verseifung entstehenden Säuren zurückzuführen ist. Die Empfindlichkeit gegen diese fällt bei Staphylokokken und Koli mit der gegen Säuren zusammen. Die charakteristische Eigenschaft der Verseifbarkeit findet sich nun auch bei der chlorierten Sulfitablauge, sofern die Chlorierung bis zu einem Chlorgehalt von mindestens 20 Proz. in dem festen Produkt getrieben ist. Wenn man die wässerige Lösung dieses Produktes mit Alkali versetzt, so wird etwa die Hälfte des Chlors verseift, wobei die Substanz durch die bei der Verseifung entstehenden Oxygruppen einen so sauren Charakter annimmt, daß sie Alkalisalze bildet. Diese entspricht daher der Chloranilsäure. Da nun die Abspaltung des Chlors durch die Natronlauge so rasch vor sich geht, daß eine Differenzierung der Geschwindigkeiten gegenüber der einfachen Neutralisierung unmöglich ist, ergaben sich große Schwierigkeiten in der Bestimmung der wahren Wasserstoffionenkonzentration. Die Indikatormethode versagte wegen der braunen Färbung, die Wasserstoffelektrode wegen leicht reduzierbarer Bestandteile. Schließlich wurde auf Grund der *Haber*schen Glaselektrode eine besondere Methode ausgearbeitet, über die bereits an anderer Stelle berichtet wurde[3]).

Die Messungsergebnisse an einer 5proz. Lösung sind in Abb. 1 dargestellt. Danach ist unmittelbar nach ihrer Herstellung die Lösung

---

[1]) Diese Untersuchungen sind bereits von unserem Mitarbeiter, Herrn Dr. *J. Carl*, veröffentlicht; vgl. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie **42**, 416, 1925.

[2]) Siehe voranstehende Arbeit.

[3]) *von Steiger*, Zeitschr. f. Elektrochem. 1924, S. 259.

noch ganz schwach sauer. Die Acidität wächst beim Stehen infolge der spontanen Verseifung und erreicht schließlich nach längerem Altern den Wert von $p_H = 2{,}4$. Der kolloidale Charakter ist jedenfalls auf eine partielle Abspaltung der Sulfogruppe zurückzuführen, denn er

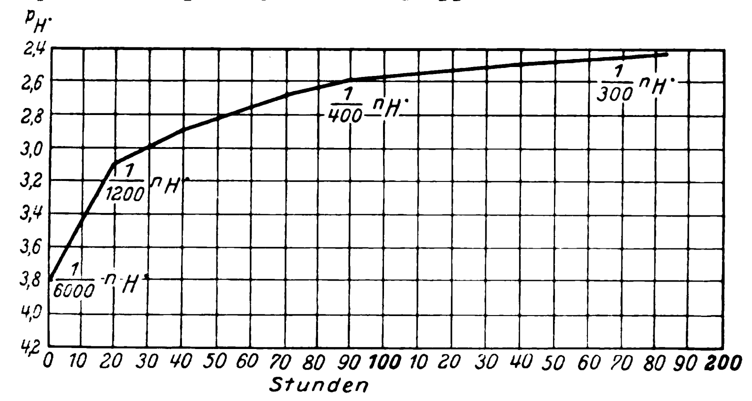


Abb. 1.

wird um so stärker, je weiter die Chlorierung getrieben ist. Man wird daher die chlorierte Sulfitablauge betrachten müssen als eine hoch chlorierte Sulfosäure, welche in lockerer molekularer Bindung noch chlorierte Chinone enthält, die sich jedenfalls von mehrkernigen Kohlenwasserstoffen ableiten. Die Addition ist so locker, daß sich ein Produkt ausäthern läßt, das wieder hauptsächlich chlorierte Chinone enthält mit herabgesetztem Schwefelgehalt, während in der Lösung die Sulfosäure angereichert ist. Für die bakterizide Wirkung ist die Kombination wesentlich, denn erst durch sie ist die feine Verteilung der an sich im Wasser unlöslichen chlorierten Chinone möglich, welche die Voraussetzung für die spätere lokale Verseifung bildet. Bei Übertragung der auf Chloranil gewonnenen Erfahrungen wird man sich den bakteriziden Effekt in der Weise vorstellen, daß die chlorierte Sulfitablauge sich auf die Mikroorganismen niederschlägt, daß sich an der Grenzfläche Säure in erhöhter Konzentration entwickelt und daß diese den Lebensprozeß beendet. Mit dieser Annahme steht sein Verhalten als Desinfiziens in vollem Einklang. Die Tabellen II bis IV zeigen, daß es spezifisch wirkt auf die gesamten Kokkengruppen,

Chlorierte Sulfitablauge gegen Staphylokokken.

Z \ c	2	3	4	5	Phenol 2 Proz.	aq.
4′	—	+	+	+	+	
16	—	—	+	+	+	
64	—	—	—	+	—	
						+

Chlorierte Sulfitablauge gegen Menningokokken.

Z \ c	2	3	4	5	6	Phenol 1 Proz	Phenol 1/2 Proz.	aq.
4'	—	—	+	+	+	—	+	
16	—	—	+	+	+	—	+	
64	—	—	+	+	+	—	—	
3 Stdn.	—	—	—	+	+	—	—	
24 ,,	—	—	—	—	+	—	—	+

Chlorierte Sulfitablauge gegen Koli.

Z \ c	2	3	4	5	Phenol 1 Proz.	aq.
4'	+	+	+	+	+	
16	—	+	+	+	+	
64	—	+	+	+	±	+

insbesondere auf die säureempfindlichen Staphylo- und Menningogruppen, während die Koligruppe relativ resistent ist. Diese Eigenschaften stehen in vollem Einklang zu den Erfahrungen, welche sich aus den Arbeiten über Tetrachlorchinon (Chloranil) ergeben. In alkalischer Lösung ist naturgemäß eine Desinfektionswirkung ausgeschlossen, da hier ohne weiteres das labile Chlor verseift wird. Daraus ergibt sich die prinzipielle Folgerung, daß im Serum eine Wirkung unmöglich ist. Diesen Fehler teilt die chlorierte Sulfitablauge allerdings mit allen unmittelbar wirkenden Desinfektionsmitteln. Auf der anderen Seite ist sie aber auch völlig unschädlich, da die Salzsäure sofort abgepuffert wird und der Rest indifferent ist. Im Magen, der ohnehin Salzsäure enthält, macht sie sich auch in hohen Konzentrationen nicht bemerkbar, und im Darm wird sie sofort abgebaut. Auf der Haut, auf Wunden usw. ist sie völlig reizlos, so daß man sie als Pulver unmittelbar auf Wunden streuen kann. Da die chlorierte Sulfitablauge außerdem noch so gut wie geruchlos ist, erscheint sie in manchen Fällen doch als zweckmäßig, wo man die bisher bekannten Desinfizientia wegen ihres Geruchs, ihrer Färbekraft oder ihrer Giftigkeit nicht verwenden kann. Es ist möglich, noch eine große Reihe analoger Stoffe herzustellen, indem man in gleicher Weise wie die Ligninsulfosäure andere Sulfosäuren, z. B. Naphthalinsulfosäure oder Anthracensulfosäure intensiv chloriert, entweder unter ultravioletter Bestrahlung oder aber durch Anwendung von Chlorat-Salzsäure. In allen diesen Fällen wird auch ein Teil der Sulfogruppen abgespalten, während der Rest der Sulfosäure, und zwar wohl in Form einer lockeren chemischen Bindung, die an sich unlöslichen Chlorierungsprodukte in Lösung hält.

In den nachfolgenden Tabellen ist eine Reihe von Protokollen wiedergegeben, welche sich auf eine durch Chlorierung von Anthracensulfosäure erhaltene Substanz beziehen. Es handelt sich also hierbei um eine größere Körperklasse, deren bakterizide Eigenschaften ziemlich übereinstimmen.

Chlorierte Anthracensulfosäure gegen Staphylokokken.

Z \ c	2	3	4	Phenol 1 Proz.	Phenol 1/2 Proz.	aq.
1'				+	+	
4	—	—	+	—	+	
16	—	—	+	—	+	
64	—	—	—	—	+	
						+

Chlorierte Anthracensulfosäure gegen Koli.

Z \ c	2	3	4	Phenol 1 Proz.	Phenol 1/2 Proz.	aq.
1'				+	+	
4	—	+	+	+	+	
16	—	+	+	+	+	
64	—	—	+	—	+	
						+

Experimenteller Teil.

Darstellung von chlorierter Sulfitablauge durch Einleiten von Chlor.

1 kg Sulfitablauge von 25° Bé wird durch Einleiten von Chlor bei 40° chloriert. Dabei werden je nach der Dauer der Chlorierung zwischen 350 und 400 g Chlor verbraucht. Aus der stark salzsauren Lösung scheidet sich dann alsbald ein feinpulveriger gelbbrauner Niederschlag ab. Dieser wird abzentrifugiert und im Vakuum über Ätzkali getrocknet und stellt dann ein gelbbraunes, fast geruchloses Pulver dar. Seine Elementarzusammensetzung schwankt je nach der Darstellungsweise zwischen 34 und 35 Proz. C, 2,5 bis 3,2 Proz. H, 25 bis 28 Proz. Chlor, 2 bis 2,3 Proz. Schwefel und etwa 0,5 Proz. Asche. Die Löslichkeit des Produktes ist abhängig von der Darstellungsweise, jedoch ist es möglich, bei genauer Innehaltung der Versuchsbedingungen ein immer gleichmäßig lösliches Produkt zu erhalten. Beim Anrühren mit wenig Wasser entsteht eine dicke Paste, die sich bei weiterer Zugabe von Wasser glatt löst. In Alkohol und Äther ist es nur wenig löslich. Beim Verreiben mit wenig Alkohol entsteht auch hier zunächst eine Paste, die sich aber im Wasser glatt löst.

Darstellung von chlorierter Sulfitablauge durch Einleiten von Chlor und Nachbehandeln mit Chloratsalzsäure.

1 kg der nach voranstehender Vorschrift erhaltenen chlorierten Sulfitablauge wird in 3 Litern 20proz. Salzsäure suspendiert und unter lebhaftem Rühren in kleinen Portionen mit 0,2 kg Kaliumchlorat bei 70° versetzt.

Das abgeschiedene Produkt wird wie vorher isoliert. Es ist in der Farbe etwas heller und der Chlorgehalt 5 bis 7 Proz. höher. In den sonstigen Eigenschaften entspricht es dem vorhergehenden Produkt.

Einwirkung von Alkali auf chlorierte Sulfitablauge.

50 g chlorierte Sulfitablauge werden mit einer Lösung von 50 g Natriumhydroxyd in 1 Liter Wasser gelöst und 2 Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehengelassen. Die schwarzbraune, noch alkalische Lösung wird dialysiert, wobei neben viel Kochsalz auch eine etwas braun gefärbte Substanz herausdialysiert. Nach dem Verschwinden der Chlorionen wird mit Schwefelsäure angesäuert und wieder dialysiert, wobei viel Natriumsulfat diffundiert. Nach dem Verschwinden der SO_4-Ionen wird zunächst auf dem Wasserbad, zum Schluß im Vakuum zur Trockene verdampft. Die erhaltene Substanz stellt dann eine dunkelbraune, glasige, aber leicht pulverisierbare Masse dar, deren Elementarzusammensetzung von dem Ausgangsmaterial abhängt. Sie schwankt zwischen 36 bis 38 Proz. C, 3,5 bis 4 Proz. H, 13 bis 17 Proz. Cl, 3,3 bis 3,6 Proz. S. Sie ist in Wasser außerordentlich leicht löslich.

Die Chlorierungsprodukte der Sulfitablauge wurden im Wissenschaftlichen Laboratorium der Koholyt Aktiengesellschaft in Wesseling b. Köln von den Herren Dr. *Deschauer* und Dr. *Schäfer* dargestellt und untersucht. — Herr Dr. *Paneth* übernahm auf unsere Bitte die Untersuchung der bakteriziden Eigenschaften, die gleichzeitig von Herrn Dr. med. vet. *J. Carl* im Berliner Laboratorium der Koholyt A.-G. bearbeitet wurden.

Die Wirkung des Cholins auf Kaulquappen.

Von

G. Farkas und **H. Tangl.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 24. September 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Seitdem *Eppinger* und *Hess* (1910) für das parasympathische System ein Hormon forderten, wie das Adrenalin eines für das sympathische ist, sind zahlreiche Arbeiten erschienen, in denen es sich um den Nachweis eines solchen Hormons handelt.

Ein solches fand auch *Weiland* (1912), von dem *Le Heux* (1918) den Nachweis erbrachte, daß dies das Cholin ist. Die Arbeiten mit Cholin zeigten, daß dasselbe auf das parasympathische System erregend wirkt, indem durch seine Wirkung auf die Chorda tympani Speichelfluß entsteht, ferner infolge seiner Einwirkung an der Speiseröhre, am Magen-Darmkanal sowie an den Bronchialmuskeln Kontrakturen auftreten, wie dies unter anderem die neueren Arbeiten von *Bakker* (1924), *Kuroda* (1924), *Arai* (1922), *Le Heux* (1921) und noch anderer Autoren beschreiben. Auf das Herz wirkt das Cholin vaguserregend [*Dahle* (1920)]. Neben dem Parasympathicusreiz spricht auch jener Umstand, daß das Cholin den Blutzuckergehalt des Blutes herabsetzt, da es das Pankreassekret mobilisiert und den Glykogenaufbau fördert [*Dressel* und *Lemen* (1923)].

Ebenso jedoch, wie die Wirkung des Adrenalins mit der Nervenerregung allein nicht erschöpft ist, da auch seine Wirkung auf das Protoplasma bekannt ist [*Nowikoff* (1908)], beschränkt sich die Wirkung des Cholins nicht nur auf die Erregung des parasympathischen Systems. *Pighini* (1921) untersuchte nämlich das Verhalten der endokrinen Drüsen und das Blut nach Cholin- und Adrenalininjektionen. Nach Adrenalininjektion fand er im Thymus parenchymatöse Degeneration, Verminderung der *Hassel*schen Körperchen, in der Milz Verarmung an *Malpighi*schen Körperchen, ferner in der Nebenniere Hypertrophie und Verminderung der lipoiden Zellen. Nach ½ bis 1 ccm 1 proz. Cholinlösung zeigte sich dagegen eine Vermehrung der *Hassel*schen Körperchen, der epitheloiden Zellen, der *Malpighi*schen Körperchen und im Blute geringfügige polynucleäre Leucocytose. Der Antagonismus zwischen Adrenalin und Cholin zeigt sich somit hier ebenso, wie in Hinsicht der Nervenerregung.

Das Adrenalin entfaltet außerdem auch noch eine biologische Wirkung. Seitdem *Gudernatsch* (1912) eine einfache und gute Versuchsmethode mit den Kaulquappen uns in die Hand gegeben hat, sind unzählige Arbeiten

erschienen, die in dieser Richtung eine Aufklärung zu schaffen bestrebt waren. *Gudernatsch* selbst fütterte Kaulquappen (Rana esculenta) mit frischen Nebennieren, fand aber hiervon bei dem Vergleich mit den Kontrolltieren keine besondere Wirkung, höchstens in der Metamorphose eine kleine Beschleunigung. Auch *Romeis* (1913) fütterte Kaulquappen mit Nebennieren, er verfütterte jedoch nicht ganze Nebennieren, sondern verabfolgte Nebennierenrinde und Mark getrennt. Die Gruppen jener Kaulquappen, die mit Rindensubstanz gefüttert wurden, zeigten schnelleres Wachstum, jene mit der Marksubstanz dagegen eine Hemmung des Wachstums. Auf die Metamorphose wirkten beide Nebennierenteile hemmend. *Abderhalden* (1915 und 1919) verwendete sowohl ganze Nebennieren als auch durch Darmsäfte abgebaute zur Fütterung und fand, daß die Tiere dabei schnell und flink waren. In den Versuchen von *van Herwerden* (1923) wurden die mit Nebennierenrinde gefütterten Kaulquappen größer, flinker und stärker, als die Kontrolltiere, dagegen machte sich auf die Metamorphose keine Wirkung bemerkbar. Der Verfasser erwähnt, daß die Marksubstanz kein Adrenalin enthalten hat, da das Wasser, worin die Tiere waren, nicht rosa wurde. Er setzte dieselben Versuche an Süßwasserschnecken fort und fand dabei, daß die Nebennierenrinde das Wachstum förderte, im Gegensatz zur Marksubstanz, die auf das Wachstum keinen Einfluß hatte. In diesen erwähnten Versuchen befaßten sich die Verfasser mit der Nebennierensubstanz oder mit Extrakten aus ihr, aber keiner von ihnen widmete Aufmerksamkeit solchen rein dargestellten hormonartigen Stoffen, die in den Nebennieren in größeren Mengen zu finden sind: dem Adrenalin und dem Cholin. Versuche in dieser Richtung wurden nur an Adrenalin ausgeführt. Die Wirkung des Adrenalins auf das Wachstum beschrieb namentlich ausführlich *Bilski* (1921) und *Křiženecký* (1921). *Bilski* versetzte das Wasser der Tiere mit Suprarenin sec. Höchst und fand, daß durch dasselbe das Wachstum stark gefördert wurde, dagegen hatte es auf die Regeneration (abgeschnittenen Schwanz) wenig Wirkung. Diese Wirkung hatten jedoch nur die kleinen Gaben, und sie verblieb auch, wenn das Wasser, infolge Oxydation, rosa wurde. Die Wachstumsvergrößerung betrug etwa 5,4 bis 103,1 Proz. *Křiženecký* (1924) bestätigte diese Daten, der viererlei Adrenalinpräparate, und zwar jedes für sich und auch mit Nebennierensubstanz gemischt, zu seinen Versuchen verwendete. Er fand gegenüber den Kontrolltieren Wachstumsvergrößerungen von 4 bis 33 Proz.

Angaben über das andere Hormon, das in dieser Richtung in der Nebenniere zu finden ist, das Cholin, hatten wir in der Literatur nirgends gefunden, so daß wir uns aus diesem Grunde zur Aufgabe stellten, die Wirkung des Cholins auf das Wachstum und die Metamorphose zu untersuchen und gleichzeitig die kleinste Konzentration zu bestimmen, bei der die Tiere bereits zugrunde gehen.

Experimenteller Teil.

Die Versuche wurden an Larven von Rana esculenta ausgeführt. Sie stammten aus einem Bache in der Nähe von Budapest. Sie wurden teils als Larven in das Institut gebracht, teils wurden sie aus Eiern im Institut selbst gezüchtet. Die Tiere wurden eine Zeitlang in großen Aquarien aufgezogen, da die jungen Tiere bei den Versuchen leicht

zugrunde gehen. Vor den Versuchen wurden aus einem Laich stammende, möglichst gleich große Tiere ausgewählt und in Gruppen von je acht Tieren in Schalen übertragen, deren jede 500 ccm Wasser enthielt. Wir trachteten, die natürlichen Lebensverhältnisse der Tiere möglichst zu bewahren. Die Erfahrung lehrt, wie dies aus den Arbeiten von *Jarisch* (1920) und *Abderhalden* und *Schiffmann* (1922) hervorgeht, daß die Kaulquappen viel leichter gedeihen, wenn die Behälter durchlüftet werden. Die Durchlüftung führten wir mit einem einfachen Glassaugpumpapparat aus. Die Tiere wurden mit getrocknetem, gestampftem und fein durchgesiebtem Kalbfleisch gefüttert. Einem Teil der Kaulquappen wurden neben dem Kalbfleisch auch lebende Algen gegeben, und es hatte sich herausgestellt, wie sich dies auch bei *Križenecký* findet, daß diese Tiere viel schneller gewachsen sind und den schädlichen Einflüssen der Gefangenschaft besser widerstehen konnten. Das Wasser wurde jeden dritten Tag gewechselt. In dieser Frage sind die Ansichten der Verfasser auch nicht gleich. So ist es nach *Křiženecký* einerlei, ob die Tiere raschem Temperaturwechsel ausgesetzt sind, oder ob man darauf achtet, daß sie stets in gleichtemperiertem Wasser leben. Da wir nun die Kaulquappen Beschädigungen möglichst wenig aussetzen wollten, achteten wir auf die konstante Temperatur des Wassers, das 3 bis 4 Tage in demselben Raume gestanden hat und daher nicht nur die Zimmertemperatur annahm, sondern auch voll Infusorien war, wodurch die Verhältnisse noch mehr den natürlichen nähergebracht wurden.

Da unser Hauptziel das Messen des Wachstums war, so legten wir großes Gewicht darauf, die Messungen möglichst genau auszuführen. Leider muß man hierbei mit einem Fehler von einigen Prozent rechnen, da man bei der genaueren Beobachtung der Tiere sehen kann, wie sie ihren Schwanz durch Muskelarbeit kürzen können. Da dies jedoch bei unseren Versuchstieren höchstens $\frac{1}{2}$ bis 1 mm betragen hat, so belief sich der Fehler im schlechtesten Falle auf höchstens 2 bis 3 Proz. Die Messungen wurden nicht auf trockenem Glase vorgenommen, da sich dadurch die Tiere leicht beschädigen können, sondern in flachen Glasschalen. In solchen Schalen verhalten sie sich ganz ruhig, so daß man ihre Länge, von der Mundspitze bis zur Schwanzspitze, mit einer Schublehre genau messen kann. Wir bestimmten auch die Schwanzlänge der Tiere, um die Wirkung des Cholins auf das Bindegewebe untersuchen zu können, da ja der Schwanz größtenteils aus solchem besteht. Das Gewicht der einzelnen Tiere hatten wir ebenfalls gemessen, es ließen sich die erhaltenen Daten jedoch leider nicht verwerten, da die Tiere in der ersten Zeit trotz ihres Längenwachstums viel an Gewicht verloren hatten. Die Gewichtsverluste sind verständlich, wenn man bedenkt, daß die Tiere aus den Aquarien in ihrem Körper

viel Sand mitgebracht hatten, den sie dann während des Versuchs über kurz und lang wieder verloren. An den Tieren zeigte sich während der Versuche große Variabilität. Einige wuchsen schneller, andere hingegen blieben im Wachsen stark zurück, bei wieder anderen stellte sich, wie wir noch sehen werden, nicht nur Wachstumsstillstand ein, sondern es zeigte sich bei ihnen sogar eine Rückbildung in der Länge. Auch auf die Pigmentationsverhältnisse wurde während der Versuche geachtet, namentlich die Feststellung etwaigen Farbenwechsels war der Zweck der Beobachtungen.

Das Cholin, das nach einem neuen Verfahren hergestellt worden ist, verdanken wir der Güte des Herrn Professor Dr. *Géza v. Zemplén*, wofür wir ihm auch hier unseren besten Dank aussprechen. Unser Cholin prüften wir auf seine Zuverlässigkeit auch im Experiment durch eine biologische Reaktion. Wir verabfolgten intravenös einem Hunde eine Cholinlösung, worauf der Blutdruck gesunken ist. Die erzielte Wirkung stimmte daher mit den neueren Angaben von *Abderhalden*, *Müller*, *Lohman* überein.

Erste Versuchsreihe.

Die zu dem Versuch benutzten Kaulquappen wurden aus einem hereingebrachten Laich im Institut gezüchtet. Die Züchtung dauerte so lange, bis die Tiere beiläufig 24,5 mm Größe erreichten, da die kleineren Tiere, wie wir das bei den Vorversuchen erfahren hatten, sehr leicht zugrunde gehen. Es wurden sorgfältig gleich große Tiere gewählt, die dann zu je acht in einer Schale verteilt wurden. Die Schalen enthielten 500 ccm Wasser, worin sich in steigender Konzentration 2—4—6—8 bzw. 10 bis 25 cg Cholin befanden. Die Reihe enthielt auch Kontrollschalen, wo die Tiere unter gleichen Verhältnissen, jedoch ohne Cholinzusatz gezüchtet wurden. Zu Vergleichszwecken wurde in eine Schale 1 ccm Adrenalin (*Richter*, Budapest, 1 : 1000) gegeben, um den Unterschied zwischen dem Verhalten der Kaulquappen gegenüber Adrenalin und Cholin festzustellen. Der Versuch wurde am 27. Mai angefangen und dauerte bis zum 12. Juli, d. h. 45 Tage. Während der Versuchsdauer wurden die Tiere viermal gemessen. Die erhaltenen Daten sind in Tabelle I ersichtlich.

Zweite Versuchsreihe.

Die Kaulquappen wurden aus einem Bache in der Nähe von Budapest gesammelt und wurden bis zu einer Größe von 26 mm Länge gezüchtet. Dann wurden sie zu je acht in 500 ccm Wasser fassende Schalen verteilt. Die Schalen enthielten, abgesehen von jener mit den Kontrolltieren, in steigender Konzentration 1 bis 9 cg Cholin. Der Versuch wurde am 12. Juni begonnen und endete am 15. Juli, dauerte somit 33 Tage. Tabelle II enthält die Daten dieser Versuchsführung.

Aus den Tabellen geht hervor, daß das Cholin auf das Wachstum von großem Einfluß ist. Je größer die Konzentration, in der sich die Tiere aufhalten, desto auffallender ist das *Zurückbleiben im Wachstum*. Diese Hemmung des Wachstums ist nicht auf die Vergiftung zurück-

Tabelle I.

Datum	Zahl der Tage	Zahl der Tiere	Gesamtlänge mm	Schwanzlänge mm	Körperzuwachs mm	Schwanzzuwachs mm	Körperzuwachs vom Anfang des Versuches mm	Schwanzzuwachs vom Anfang des Versuches mm
			500 ccm Wasser					
27. V.		8	24,6	16,5	—	—	—	—
12. VI.	15	8	28,1	18	3,5	1,5	3,5	1,5
27. VI.	30	8	31,3	19,5	3,2	1,5	6,7	3
12. VII.	45	8	34,9	21,4	3,6	1,9	10,3	4,9
			500 ccm Wasser + 2 cg Cholin					
27. V.		8	24,5	16,5	—	—	—	—
12. VI.	15	8	26,5	17,3	2	0,8	2	0,8
27. VI.	30	7	28,4	18,3	1,9	1,0	2,9	1,8
12. VII.	45	7	30,3	19,2	1,9	0,9	5,8	2,7
			500 ccm Wasser + 4 cg Cholin					
27. V.		8	25,2	16,5	—	—	—	—
12. VI.	15	8	27,2	18	2	1,5	2	1,5
27. VI.	30	8	28,6	18,8	1,4	0,8	3,4	2,3
12. VII.	45	8	29,9	19,6	1,3	0,8	4,7	3,1
			500 ccm Wasser + 6 cg Cholin					
27. V.		8	24,5	16,6	—	—	—	—
12. VI.	15	7	26,3	17,5	1,8	0,9	1,8	0,9
27. VI.	30	6	27,6	18,3	1,3	0,8	3,1	1,7
12. VII.	45	6	28,6	18,9	1,0	0,6	4,1	2,3
			500 ccm Wasser + 8 cg Cholin					
27. V.		8	25,1	16,3	—	—	—	—
12. VI.	15	6	26,6	17	1,5	0,7	1,5	0,7
27. VI.	30	6	27,6	17,6	1,0	0,6	2,5	1,3
12. VII.	45	6	28,6	18,3	1,0	0,7	3,5	2,0
			500 ccm Wasser + 10 bis 25 cg Cholin					
27. V.		8	24,6	16,6	—	—	—	—
12. VI.	15	6	23,8	15,1	—0,8	—1,5	—	—
27. VI.		2						
12. VII.								
			500 ccm Wasser + 1 ccm Adrenalin					
27. V.		8	25	16,4	—	—	—	—
12. VI.	15	8	28,9	18,4	3,9	2,0	3,9	2,0
27. VI.	30	8	33,0	21,5	4,1	3,1	8,0	5,1
12. VII.	45	8	37,2	24,8	4,2	3,3	12,2	8,2

zuführen, denn die Tiere waren in den Bewegungen sehr flink, nahmen das Futter auf und sahen sehr munter und gesund aus. Bei der Gruppe mit 10 bis 25 cg Cholin, wo die Konzentration dreitägig um 5 cg gesteigert wurde, ergeben sich Besonderheiten insofern, als diese hohen Konzentrationen nicht nur hemmend auf das Wachstum einwirkten, sondern den Tieren derart unzuträglich waren, daß dieselben geradezu

Tabelle II.

Datum	Zahl der Tage	Zahl der Tiere	Gesamtlänge mm	Schwanzlänge mm	Körperzuwachs mm	Schwanzzuwachs mm	Körperzuwachs vom Anfang des Versuchs mm	Schwanzzuwachs vom Anfang des Versuchs mm
			500 ccm H_2O					
12. VI.		8	26	17	—	—	—	—
27. VI.	15	8	29	18,6	3	1,8	3	1,8
9. VII.	27	8	32	20,5	3	1,9	6	3,7
15. VII.	33	8	33,6	21,6	1,5	1,1	7,6	4,8
			500 ccm H_2O + 1 cg Cholin					
12. VI.		8	26,2	17,5	—	—	—	—
27. VI.	15	8	29,2	19	3	1,5	3	1,5
9. VII.	27	8	31,7	20,2	2,5	1,2	5,5	2,7
15. VII.	33	7	33,0	21,1	1,3	0,9	6,8	3,6
			500 ccm H_2O + 3 cg Cholin					
12. VI.		8	25,9	17	—	—	—	—
27. VI.	15	7	27,9	18,5	2	1,5	2	1,5
9. VII.	27	7	29,5	20,0	1,6	1,4	3,6	3
15. VII.	33	7	30,9	20,9	1,4	0,9	5,0	3,9
			500 ccm H_2O + 5 cg Cholin					
12. VI.		8	. 26	17,2	—	—	—	—
27. VI.	15	7	27,9	18,1	1,9	0,9	1,9	0,9
9. VII.	27	6	29,2	18,9	1,3	0,8	3,2	1,7
15. VII.	33	6	29,9	19,4	0,7	0,5	3,9	2,2
			500 ccm H_2O + 7 cg Cholin					
12. VI.		8	26,3	17,5	—	—	—	—
27. VI.	15	6	28	18,2	1,7	0,7	1,7	0,7
9. VII.	27	6	29,1	18,9	1,1	0,7	2,8	1,4
15. VII.	33	6	29,8	19,5	0,7	0,6	3,5	2,0
			500 ccm H_2O + 9 cg Cholin					
12. VI.		8	25,8	17,1	—	—	—	—
27. VI.	15	7	27,1	17,8	1,3	0,7	1,3	0,7
9. VII.	27	6	28,0	18,1	0,9	0,3	2,2	1,0
15. VII.	33	5	28,5	18,4	0,5	0,3	2,7	1,3

kleiner wurden und nach einiger Zeit sogar eingingen. Abb. 1 zeigt uns graphisch dargestellt die Wirkung des Cholins im Vergleich mit jener des Adrenalins sowie dem Verhalten der Kontrolltiere. Zusatz von Adrenalin förderte das Wachstum der Tiere, und zwar nahm ihre Länge um 44 Proz. zu, bei den Kontrolltieren entsprach die Zunahme 42 Proz. der ursprünglichen Länge. Weniger gut entwickelten sich die Cholintiere, und zwar äußerte sich die Veränderung im Wachstum gegenüber den Kontrolltieren mit dem Ansteigen der Konzentration des Cholins. Das Wachstum betrug bei der Konzentration von 2 cg Cholin 24,1 Proz., von welcher Höhe die Kurve bei der Konzentration von 8 cg auf 14 Proz. herabfällt. Die größeren Gaben (10 bis 25 cg)

Cholin wurden von den Kaulquappen sehr schlecht vertragen, von den Tieren gingen dann viele zugrunde, so daß am 30. Tage des Versuchs nur noch zwei am Leben waren, und auch diese waren geschrumpft, sehr matt und schwammen auf der einen Seite liegend.

In der zweiten Versuchsreihe verabreichten wir kleinere Dosen Cholin als in der ersten Versuchsreihe, namentlich in steigender Konzentration, 1 bis 9 cg. Die Ergebnisse zeigen schön die hemmende Wirkung des Cholins. Das Wachstum der Kontrolltiere betrug 29,3 Proz. ihrer Körperlänge, jener der Cholintiere dagegen bei 1 cg nur 26,1 Proz., bei 3 cg 19,2 Proz., bei 5 cg 15 Proz., bei 7 cg 13,4 Proz. und bei 9 cg 10,3 Proz. Die hemmende Wirkung des Cholins ist sehr gut auch aus Abb. 2 ersichtlich.

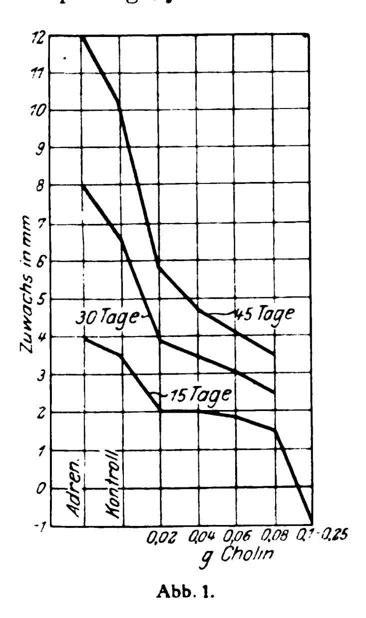


Abb. 1.

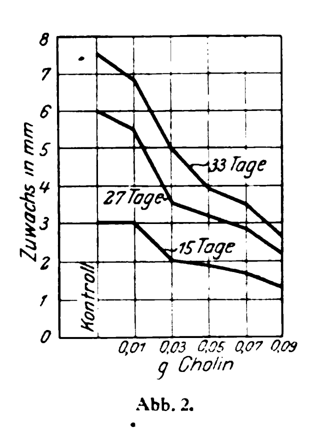


Abb. 2.

Das Cholin hat auch die Variation der Kaulquappen stark beeinflußt. Unter Variation versteht man bei den Kaulquappen den Unterschied in der Länge zwischen den kleinsten und den größten Kaulquappen. Nach *Kříženeckӯ* und *Cetl* (1923) tritt Variation auch bei normalen, unter keiner fremden Einwirkung stehenden Kaulquappen zutage. Dies hatte sich auch in unserem Versuch gezeigt, da bei den Kontrolltieren (Tabellen III und IV) der Unterschied zwischen den kleinsten und größten Kaulquappen am Anfang des Versuchs 3 bzw. 4 mm betrug, am Ende sogar 5 mm. Die Variation steigerte sich noch bei den Cholintieren. Je größer die Gabe von Cholin war, desto größer war die Variation. Die große Variation ist dadurch entstanden, daß die kleineren Tiere gegenüber dem Cholin keinen so großen Widerstand leisten konnten wie die größeren, weil sie die hemmende Wirkung des Cholins besser überwinden konnten und daher ihre Wachstumsverhält-

Tabelle III.

500 ccm H_2O + cg Cholin	Kürzestes (a)	Längstes (b)	Kürzestes (c)	Längstes (d)	c—a	d—b	b—a	d—c
	Individuum am Anfang des Versuchs		Individuum am Ende des Versuchs					
—	23	26	31	36	8	10	3	5
2	23	26	27	32,5	4	6,5	3	5,5
4	24	27	26	33	2	6	3	7
6	23	27	27	35	4	8	3	8
8	24	27	26,5	31	2,5	4	3	4,5
10—25	24	25	22	25	—2	0	1	3

Tabelle IV.

500 ccm H_2O + cg Cholin	Kürzestes (a)	Längstes (b)	Kürzestes (c)	Längstes (d)	c—a	d—b	b—a	d—c
	Individuum am Anfang des Versuchs		Individuum am Ende des Versuchs					
—	24	28	31	36	7	8	4	5
1	25	28,5	31	35,5	6	8	3,5	4,5
3	25	28	27,5	33,5	2,5	5,5	3	6
5	25	27	27	33	2	6	2	6
7	24	27	26	33	2	6	3	7
9	24,5	27,5	26	30	1,5	2,5	3	4

nisse jenen der Kontrolltiere näher kamen. Bei den größeren Gaben über 8 cg sehen wir aber, daß da auch schon die großen Tiere gelitten haben und die Variation derart stark zurückfiel, daß sie noch kleiner wird als jene bei den Kontrolltieren.

Über den Einfluß des Cholins auf die Metamorphose läßt sich vorderhand nichts Bestimmtes aussagen, allerdings waren die Anlagen der Gliedmaßen noch zu klein. Immerhin hat es den Anschein, daß auch die Metamorphose etwas zurückblieb während der Versuchsdauer.

Während der entwicklungshemmende Einfluß auf die Körperlänge nach den bisherigen Ausführungen dahin zusammengefaßt werden kann, daß je größer die verabfolgte Cholingabe, desto größer die Wachstumshemmung, läßt sich ein ähnlicher Zusammenhang zwischen der Größe der Cholingaben und der Entwicklung des Schwanzes nicht dartun. Wohl hat das Cholin auch auf das Längenwachstum des Schwanzes einen nachteiligen Einfluß ausgeübt, doch war die Verminderung des Schwanzzuwachses gegenüber jener der Kontrolltiere nicht proportional den Cholingaben.

Wie wir dies bereits erwähnten, beobachteten wir mit besonderer Aufmerksamkeit die Pigmentation der Kaulquappen. Die Beobachtungen zeigten leider kein einheitliches Resultat, da sich die Pigmentation oft veränderte. Die Cholintiere erschienen wohl von Zeit zu Zeit

etwas schwärzer als die Kontrolltiere, es gab aber auch Intervalle, wo das Entgegengesetzte der Fall war. Um die Wirkung des Cholins auf die Pigmentation besser beobachten zu können, führten wir größeren Tieren Cholin auch direkt durch subkutane Injektionen in den Körper ein. Hierauf blieben einige Tiere unverändert, andere wieder wurden dunkler. Dieses Dunklerwerden dauerte jedoch nicht lange, da sich die Pigmentation rasch verlor und die Tiere sogar derart durchsichtig wurden, daß man Herz und Lungen ganz gut sehen konnte. Es ist nicht leicht, eine Erklärung für diese Erscheinung zu finden, zumal in der Chemie der Pigmentationen viele Fragen noch ungeklärt sind. Bei der wichtigen Rolle von Tyrosin und der Purinkörper für das Entstehen von tierischen Pigmenten ist immerhin mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das Cholin unmittelbar oder mittelbar den Tyrosin- oder Purinstoffwechsel beeinflußt und daher auf die Pigmentbildung einen entscheidenden Einfluß ausübt.

Es ist bei den Versuchen auch die Frage aufgeworfen worden, wie groß die Gabe des Cholins ist, die von den Kaulquappen längere Zeit hindurch nicht mehr vertragen wird. Aus diesem Grunde wurde eine Versuchsreihe zusammengestellt, wo die Kaulquappen großen Gaben von Cholin ausgesetzt waren. In 100 ccm Wasser fassende Schalen wurden je zwei kleinere (12 bis 13 mm) und je zwei größere (25 bis 30 mm) Kaulquappen gegeben, die den ganzen Versuch hindurch keine Nahrung bekamen. Das Wasser in den Schalen wurde in steigender Konzentration mit 3 bis 80 cg Cholin versetzt. Aus dem Versuch ging hervor, daß während der Versuchsdauer von 5 Tagen die Tiere die angewandten zwei größten Konzentrationen nicht aushalten konnten. In der Konzentration von 80 cg (8 Proz.) sind nämlich die Kaulquappen bereits in 36 Stunden zugrunde gegangen, und nach 12 Stunden folgten jene, die der Konzentration von 60 cg (6 Prom.) ausgesetzt waren. Jene Kaulquappen, die kleineren Konzentrationen ausgesetzt waren, widerstanden während der 5 Tage ganz leidlich der Cholinlösung, nur in der Schale mit 40 cg (4 Prom.) Cholin sind am zweiten Tage zwei, und in jener mit 20 cg (2 Prom.) Cholin ein Tier eingegangen.

Zusammenfassung.

In der Arbeit wurde gezeigt, daß Cholin auf das Längenwachstum von Kaulquappen eine hemmende Wirkung entfaltet. Die Hemmung des Längenwachstums ist um so ausgeprägter, je größeren Cholinkonzentrationen die Tiere ausgesetzt waren. *Das Cholin übt folglich auf das Wachstum von Kaulquappen eine dem Adrenalin entgegengesetzte Wirkung aus.*

Literatur.

Eppinger und *Hess*, Die Vagotonie. Sammlung klinischer Abhandlungen über Pathologie und Therapie des Stoffwechsels und Ernährungslösungen 1910. — *Wailand*, Pflügers Arch. **147**, 1912. — *Le Heux*, ebendaselbst **178**. 1918; **190**, 1921. — *Bakker*, Die automatischen Bewegungen der Speiseröhre und Radioaktivität. Dissertation Utrecht 1924. — *S. Kuroda*, Zeitschr. f. d. ges. Med. **39**, 1924. — *Arai*, Pflügers Arch. **193**, 1922. — *Dahle*, Journ. of physiol. a. exper. Therapie **6**, 147, 1920. — *H. Dressel* und *H. Zemin*, diese Zeitschr. **139**, 1923. — *Nowikoff*, Arch. f. Protistenk. **11**, 1908. — *G. Pighini*, Rev. sperem. di freniatr. arch. ital. p. l. malat nerv. e. ment. **45**, 1921. — *Gudernatsch*, Arch. f. Entwicklungsmech. **35**, 1912. — *Romeis*, ebendaselbst **37**, 1913. — *Abderhalden*, Pflügers Arch. **162**, 1915. — *van Herwerden*, Biol. Zentralbl. **42**, 1923; Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsmech. **98**, 1923. — *Bilski*, Pflügers Arch. **191**, 1921. — *Křiženecky*, Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsmech. **101**, 1923. — *Jarisch*, Pflügers Arch. **179**, 1919. — *Abderhalden* und *Schiffmann*, ebendaselbst **195**, 1922. — *Křiženecký* und *Četl*, Arch. f. Entwicklungsmech. **100**, 1923.

Über die Wirkung der Neutralsalze auf das Durchdringen der H˙- und OH′-Ionen durch das Pflanzenplasma. I.

Von

Jaan Port.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts zu Tartu (Dorpat).]

(Eingegangen am 26. September 1925.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

In den unlängst erschienenen Arbeiten von *W. Brenner* wird die Wirkung der H˙- und OH′-Ionen auf das Plasma und das Durchdringen derselben Ionen durch das Pflanzenplasma untersucht, wobei besonders die kritischen Ionenkonzentrationen der Säuren und Basen berücksichtigt werden.

Weil in den erwähnten Arbeiten die Wirkung der Neutralsalze auf das Durchdringen der H˙- und OH′-Ionen auf das Plasma sehr kurz behandelt worden ist, so wollte ich eine Untersuchung in weiterem Umfange mit anderen Methoden und Objekten über diese Frage unternehmen. Während *Brenner* seine Untersuchungen mit plasmolysierten Zellen ausführte, blieben sie in meinen in möglichst normalem und unplasmolysiertem Zustande.

Die Versuche.

Als Untersuchungsobjekte dienten die dunkelvioletten Kronblätter von *Viola tricolor* (forma Doktor *Faust*), von welchen die Mittelteile in 1 × 1 bis 2 × 2 mm große Stücke geschnitten wurden (300 bis 500 Schnitte aus einem Kronblatte). Jede Untersuchungsserie wurde mit aus einem einzigen Kronblatt bereiteten Schnitten durchgeführt, wobei bei jeder Serie mindestens eine parallele Kontrollversuchsreihe angestellt wurde. Die Farbe des neutralen Anthocyans in den oberen Epidermiszellen wird durch H˙-Ionen aus dunkelviolett → rötlichviolett → rot und von OH′-Ionen aus dunkelviolett → blauviolett → blau → grün → gelb umgeschlagen.

Da bei den oben erwähnten Objekten die oberen Epidermiszellen, die mit sehr kleinen bzw. reduzierten Papillen versehen sind, Anthocyan in größerer Konzentration (häufig in Kristallen ausgeschieden!) enthalten, als die unteren Epidermiszellen (Anthocyanfarbe häufig rötlichviolett!), so wurden bei den Untersuchungen und bei der Registrierung nur die oberen Epidermiszellen der unbeschädigten Schnitte in Betracht gezogen. Bei der Schätzung wurde die Zahl der von H˙- und OH′-Ionen umgeschlagenen

Anthocyan enthaltenden Zellen in Prozenten notiert, ebenso auch der Prozentgehalt der plasmolysierten bzw. lebenden Zellen.

Die Untersuchungen wurden folgendermaßen ausgeführt: 15 Minuten blieben die frisch aus dem Kronblatt bereiteten Schnitte zwischen reinem *Kahlbaum*schen Filtrierpapier, in destilliertem Wasser, dann kamen sie in die mit festen Korken versehenen zylindrischen Versuchsgläser mit den bestimmten Lösungen. Je nach 10 bis 15 Minuten wurden vier bis sechs von ihnen mittels einer Vogelfeder oder vernickelter Nadel herausgeholt und unter einem Mikroskop, gewöhnlich bei 340maliger Vergrößerung, ohne Deckglas beobachtet. Danach zwecks Plasmolyse, in 15- bis 20proz. Saccharoselösung auf 20 bis 30 Minuten hineingelegt und dann wiederum unter dem Mikroskop untersucht, um festzustellen, wie viele von den Zellen noch am Leben waren.

Bei den Untersuchungen wurden Präparate von *Kahlbaum* angewendet: 1 n Säuren und Laugen, wasserfreie Amine und Salze mit der Marke „Zur Analyse".

Die p_H-Bestimmungen wurden nach der *Sörensen*schen Indikatorenmethode mittels von *E. Leitz* konstruiertem Komparator durchgeführt. Zu den Lösungen wurde gewöhnliches destilliertes Wasser angewendet.

Bei den **Vorversuchen** wurden folgende Versuchsbedingungen aufgeklärt:

1. In bezug auf die *Objekte* hat es sich gezeigt, daß die aus jungen Kronblättern gefertigten Schnitte die besten und am meisten übereinstimmenden Resultate ergaben. Deshalb wurden zu den Versuchen nur junge, frische und kräftige Blüten verwendet. Und da nur die zwei oberen Kronblätter eine homogene Farbe und in den oberen und unteren Epidermiszellen fast gleichfarbiges Anthocyan besitzen, so wurden die Schnitte nur aus diesen zwei Kronblättern angefertigt.

2. Von den *äußeren Faktoren* wurde die Wirkung der Temperatur, des Lichtes und des Wassers auf die Permeabilität der Zellen des Untersuchungsobjektes untersucht.

Die Versuche über die Abhängigkeit der Permeabilität der Zellen von der *Temperatur*, die im Thermostaten ausgeführt wurden, ergaben, daß bei t^0 29 bis 30° C das Durchdringen der H˙-Ionen um 50 bis 60 Proz. größer war als bei 19 bis 20° C. Die Wirkung des *Lichtes* auf die Permeabilität des Plasmas war fast ähnlich den von *Tröndle* mit chlorophyllhaltigen Zellen gefundenen Resultaten. Die aus von der Sonne belichteten Kronblättern gefertigten Schnitte ergaben folgende Resultate: daß das Durchdringen der H˙-Ionen durch das Plasma während 1 Stunde am größten bei diffusem Tageslichte, kleiner in direktem Sonnenlichte, am kleinsten im Dunkeln bei konstanter Temperatur war.

Nachdem die Schnitte 14 Stunden in destilliertem Wasser im Dunkeln gelegen hatten, ergab sich folgendes: a) daß beim Sonnenlichte das Durchdringen der H˙-Ionen durch das Plasma größer war als im Dunkeln; b) daß es bei Gegenwart von Salzen bedeutend geringer als in reinen Lösungen von Säuren war; c) die NH_4-Salze förderten überhaupt nicht mehr, wie gewöhnlich, das Durchdringen der H˙-Ionen durch das Plasma. Diese Permeabilitätsverhältnisse sind auf die dauernde Wirkung des Wassers (*Fitting*) und der Dunkelheit (*Tröndle*) zurückzuführen. Die oben erwähnten Verschiedenheiten der Wirkung von Temperatur, Licht und Wasser in Betracht ziehend, habe ich die weiteren Versuche folgendermaßen angestellt: nachdem die Schnitte 15 Minuten im destillierten Wasser gelegen hatten,

wurden die Versuche möglichst bei gleicher Temperatur und bei diffusem Tageslicht ausgeführt.

3. Weiter wurde die Wirkung der *verschiedenen Salzkonzentrationen* auf das Eindringen der H'Ionen in das Plasma untersucht.

Tabelle I.

0,0005 n HCl, p_H 3,5. 0,0005 n H_2SO_4, p_H 3,5.

H_2SO_4 +	3 ccm Säure = 0,001 n und + 3 ccm Salz =						
	0,025 n	0,05 n	0,1 n	0,2 n	0,25 n	0,5 n	
KCNS . .	3,7 >	3,8	3,9 >		4,1 >		H_2SO_4 + KCNS
KNO_3 . .	3,65	3,7	3,75	3,8		4,2	H_2SO_4 + KNO_3
KBr . . .	3,6	3,7	3,8	3,9		4,3	H_2SO_4 + KBr
$CaCl_2$ . .	3,7	3,8	3,9	4,0		4,35	H_2SO_4 + $CaCl_2$
$Ca(NO_3)_2$.	3,65	3,7	3,8	3,9			H_2SO_4 + $Ca(NO_3)_2$
HCl + $Ca(NO_3)_2$	3,8	3,9	3,95	4,0			

In der Tabelle I sind in den Vertikalreihen die p_H-Werte der Säuren 0,0005 n (p_H 3,5) mit verschiedenen Salzkonzentrationen angegeben. Wir sehen aus der Tabelle, daß mit steigender Salzkonzentration die H'-Ionenkonzentration immer mehr heruntergedrückt wird. Weiter merkt man noch, daß die H'-Ionenkonzentrationen nicht bei allen Salzen gleichmäßig vermindert werden; außerdem sind die Unterschiede auch von den Säuren abhängig (vgl. auch Tabelle VI und VIII).

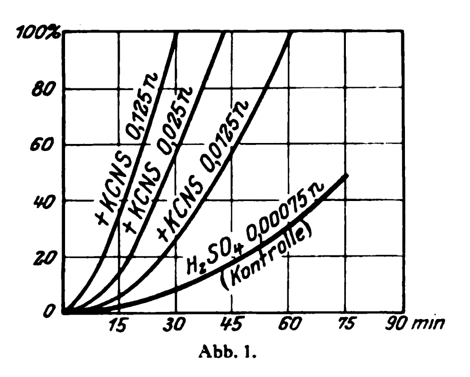


Abb. 1.

Aus den Versuchen ergab es sich, daß die Wirkung der Salzkonzentrationen auf das Durchdringen der H'-Ionen durch das Plasma eine recht bedeutende Rolle spielte. Man könnte dabei zwei Arten von Salzen unterscheiden: 1. diejenigen, die das Durchdringen der H'-Ionen *fördern* und deren Wirkung proportional der Salzkonzentration steigt (die verschiedenen Salzkonzentrationen wurden nur bis 0,25 n untersucht). In Abb. 1 ist als Vertreter dieser Gruppe KCNS angeführt.

Auf der Ordinatenachse sind die Prozente der Zellen, in welchen der Umschlag von Anthocyan durch H'-Ionen stattgefunden hat, auf der Abszissenachse die Zeit des Umschlages angegeben.

2. Die zweite Gruppe von Salzen *hemmt* das Durchdringen der H'-Ionen. Die Hemmung von *Alkalisalzen* ist proportional der Konzentration nur bis zu 0,2 bis 0,25 n (plasmolytische Grenzkonzentration bei dem Versuchs-

objekte). Wenn aber die Salzkonzentration eine Plasmolyse hervorruft, so fangen die H˙-Ionen an, wieder schneller in das Plasma zu dringen, wie das bei KBr 0,25 n (Abb. 2) zu sehen ist.

Auch bei den Salzen der *alkalischen Erden* konnte die schnellere Eindringung der H˙-Ionen in die plasmolysierten Zellen nach mehreren Stunden festgestellt werden. Bei niedrigen Konzentrationen, z. B. $CaCl_2$0, 0125 n, drangen die H˙-Ionen am Anfang im Verlauf von 15 Minuten noch in die Zellen ein, später aber nicht mehr (Abb. 3), während die schon eingedrungenen H˙-Ionen irgendwie im Zellsaft neutralisiert wurden und das Anthocyan wieder einen neutralen violetten Farbenton bekam.

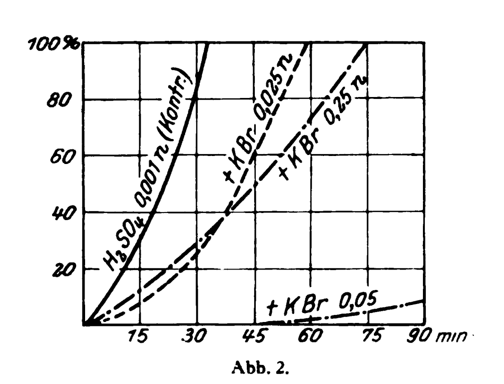


Abb. 2.

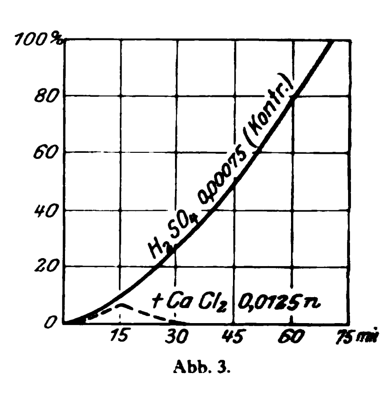


Abb. 3.

Weil die Konzentrationswirkungen der Salze auf das Durchdringen der H˙-Ionen so verschieden sind, habe ich die mittlere Konzentration 0,1 n für alle folgenden Versuche gewählt.

Wenden wir uns jetzt zu den *Hauptversuchen*. Hierzu muß ich bemerken, daß da wegen des Raummangels die Protokolle der Versuche, welche in den Frühlings- und Sommermonaten 1924 bis 1925 veranstaltet wurden und die 244 Versuchsserien mit 912 Versuchsreihen, etwa 4200 Einzelbeobachtungen + etwa 2500 Beobachtungen der Plasmolyse und etwa 470 p_H-Bestimmungen enthielten, nicht vorgebracht werden können, ich habe versucht, nur das Wesentliche in den folgenden Tabelle zusammenzufassen.

Die Wirkung der Neutralsalze auf das Durchdringen der H˙-Ionen durch das Pflanzenplasma.

A. Da das Anthocyan der Epidermiszellen von V. tricolor in verhältnismäßig großen Konzentrationen vorhanden ist, so daß beim merklichen Umschlagen der Farbe eine relativ große Menge von H˙-Ionen nötig ist, so mußten die Versuche mit schwach dissoziierten Säuren ausbleiben und nur mit starken Säuren veranstaltet werden. Die Versuche wurden ausgeführt mit drei Konzentrationen von HCl und H_2SO_4: 0,0005 n, 0,00075 n und 0,001 n (p_H 3,5 bis 3,0). Bei niedrigen Konzentrationen konnte der Umschlag der Anthocyanfarbe nach 24 Stunden nicht mehr beobachtet werden. Bei den Konzentrationen der Säuren höher als 0,001 n (p_H 3,0) starben die Zellen vor dem Farbenumschlagsmoment. Also bei p_H 3,5 bis 3,0 der HCl und H_2SO_4 wäre nach *Brenner* bei dem angewandten Objekt die sogenannte „normale Permeabilität" des Plasmas für H˙-Ionen.

Tabelle II.

Kat. \ An.	CNS	NO_3	Cl	Br	J	SO_4	H_2PO_4	$C_2H_3O_2$	Citr.	Tartr.
NH_4 . .	++	+	(∓)			∓		=		
Na . .	+	—	(—)	—		—				
K . . .	+	—	(—)	—	—	—	=	≡	=	
Li . . .		—	—	—		≡		≡		
Rb . .		—	—			≡				
Cs . . .			—			≡				
Mg . .		=	≡		=	≡				
Ba . .	(∓)	(∓)	∓	∓						
Sr . . .		≡	≡	≡						
Ca . . .	—	∓	≡	=						

In der Tabelle II sind die verschiedenen Wirkungen der Neutralsalze auf das Eindringen der H'-Ionen in das Plasma folgendermaßen angedeutet: − − + fördert sehr stark, + + fördert stark, + fördert, ∓ hemmt am Anfange, später fördert, — hemmt, = hemmt stark, ≡ hemmt sehr stark. Die Klammern ( ) bedeuten, daß die Wirkung schwach zum Ausdruck kommt.

a) Aus der Tabelle II ist ersichtlich: 1. daß die Rhodanide [außer $Ca(CNS)_2$] den Durchgang der H'-Ionen durch das Plasma *förderten*. Diese Erscheinung kann dadurch erklärt werden, daß die erwähnten Salze schnell in das Plasma eindringen, wobei sie die Plasmakolloide auflockern (peptisieren) (*Kaho*), weswegen auch H'-Ionen leicht die Plasmamembran passieren können. Die Versuche zeigten zugleich, daß die Zellen gewöhnlich von Rhodaniden [außer $Ca(CNS)_2$] getötet wurden, bevor der Anthocyanumschlag zustande gekommen war.

2. Ferner *fördern* das Durchdringen der H'-Ionen *Ammoniumsalze* (außer CH_3COONH_4). Diese Salze fördern das Durchdringen der H'-Ionen in folgender Reihenfolge: $NH_4CNS > NH_4NO_3 > NH_4Cl > (NH_4)_2SO_4$. Die zwei letzteren Salze halten das Durchdringen zuerst auf, später (nach 30 bis 50 Minuten) wird es aber wieder rasch beschleunigt.

b) Die Ba-Salze *hindern* am Anfange das Durchdringen der H'-Ionen, *fördern* es aber nach etwa 1 Stunde. Da diese Salze auch verhältnismäßig schnell in die Zelle eindringen, auf das Plasma vergiftend wirken, so ist das später schnelle Eindringen der H'-Ionen damit zu erklären. Auch die Wirkung des $Ca(NO_3)_2$ ist zuerst hemmend, nach 45 bis 60 Minuten aber fördernd, was ebenso, wie bei Ba-Salzen, zu erklären ist.

c) Alle anderen in der Tabelle vorgeführten Salze *hemmen* das Durchdringen der H'-Ionen jedoch ungleichmäßig. Hier kann man drei Gruppen von Salzen unterscheiden:

1. Die Nitrate, Chloride, Bromide, Jodide und teils Sulfate der Alkalimetalle *hemmen* verhältnismäßig *schwach*, jedoch auch ungleichmäßig, das Durchdringen der H'-Ionen: ($NO_3 < Cl < Br$, $J < SO_4$).

2. Die Sulfate, Phosphate, Acetate, Tartrate, Citrate der Alkalimetalle *hemmen* das Durchdringen der H'-Ionen durch das Plasma *ziemlich stark* ($SO_4 < H_2PO_4 <$ Acet., Tartrat, Citrat).

3. Die Salze der alkalischen Erden [außer Ba-Salze und $Ca(NO_3)_2$] *hemmen* auch recht bedeutend.

Um festzustellen, ob nicht *eine Abhängigkeit* zwischen oben erwähnten verschiedenen Salzwirkungen und der Erniedrigung der H'-Ionenkonzentrationen von diesen Salzen vorhanden ist, wurden zugleich die p_H-Werte

der 0,0005 n HCl + 0,1 n Salzlösungen bestimmt. In der Tabelle III sind diese Werte angegeben, wobei 0,0005 n HCl p_H 3,5 hat.

Tabelle III.
0,0005 n HCl, p_H 3,5. Temperatur 19° C.

Kat. \ An.	CNS	NO_3	Cl	Br	J	SO_4	H_2PO_4	$C_2H_3O_2$	Citr.	Tartr.
NH_4 . . .	3,6	3,6	3,6			3,9		6,8		
Na . . .	3,6	3,6	3,6	3,7		3,9				
K	3,6	3,6	3,6	3,7	3,85	3,9	4,7	7,3	7,5	
Li		3,6	3,6			3,9		7,0		
Rb . . .		3,6	3,6			3,9				
Cs			3,7			4,0				
Mg . . .		3,65	3,7		3,7	3,9				
Ba . . .	3,7	3,7	3,7	3,7						
Sr		3,7	3,7	3,8						
Ca	4,1	4,0	3,7	3,8						

Aus Tabelle III ist ersichtlich, daß diejenigen Salze, die am meisten das Eindringen der H˙-Ionen in die Zellen hemmen (Sulfate, Phosphate und die Salze der organischen Säuren), auch am meisten die H′-Ionenkonzentration herabsetzen, ebenso die Salze der alkalischen Erden mehr als die Alkalisalze. Bemerkenswert ist aber, daß diejenigen Salze, die das Durchdringen der H˙-Ionen fördern, die H˙-Ionenkonzentration doch herabsetzen (NH_4-Salze, Rhodanide).

Tabelle IV.
Temperatur 18 bis 22° C.

Kat. \ An.	CNS	NO_3	Cl	Br	J	SO_4	$C_2H_3O_2$	H_2PO_4
NH_4	++	∓	∓			—		
Na	++	—	—	—		—		
K	++		—	—				
Li		—		—		—	—	
Cs			—			—		
Mg		=	=		=	=		
Ba	+		∓	∓				
Sr		=	=	=				
Ca	—	∓	=	=				

Tabelle V.
Temperatur 18° C.

Kat. \ An.	CNS	NO_3	Cl	Br	J	SO_4	$C_2H_3O_2$	H_2PO_4
NH_4	3,65	3,65	3,7			3,95		
Na	3,7	3,7	3,7	3,8		4,0		
K	3,95	3,8	3,7	3,9	3,8	4,1		
Li		3,7	3,7	3,75				
Cs			3,7			4,0		
Mg		3,7	3,75		3,7	3,9		
Ba	3,75	3,65?	3,7	3,75				
Sr		3,65	3,7	3,75				
Ca	4,2	3,9	4,0	3,7				

In den Tabelle IV und V sind entsprechend dieselben Resultate mit H_2SO_4 – Salzen, wie in Tabelle II und III, gegeben. Aus ihnen ist zu ersehen, daß die Verhältnisse im großen und ganzen mit denen der Tabellen II und III übereinstimmen, obgleich in Details Abweichungen vorkommen. Die wichtigsten Unterschiede mit H_2SO_4 gegenüber der HCl wären die folgenden: 1. NH_4-Salze (außer NH_4CNS) fördern bedeutend schwächer mit H_2SO_4 den Durchgang der H˙-Ionen in die Zellen, als mit HCl. 2. Mit H_2SO_4 setzen die Neutralsalze die H˙-Ionenkonzentration verhältnismäßig mehr herab, als mit HCl.

Auch bei H_2SO_4 merkt man, daß diejenigen Salze, welche das Durchdringen der H˙-Ionen stärker hemmen, auch die H˙-Ionenkonzentration entsprechend stärker herabsetzen.

Jetzt erhob sich die Frage: wie steht es mit der Wirkung der Salze bei gleichen H˙-Ionenkonzentrationen? Ob die Salze auch dann auf das Durchdringen der H˙-Ionen hemmend wirken können, wenn die p_H-Werte der Salzlösungen gleich dem p_H der entsprechenden Säure sind, und ob die Salze bei gleichwertigem p_H überhaupt individuelle Hemmungseigenschaften besitzen?

In der Tabelle VI sind die Resultate bei gleichem p_H 3,2 mit HCl zusammengefaßt.

Tabelle VI.

Temperatur 20°. HCl + die Salze p_H 3,2.

Kat. \ An.	CNS	NO_3	Cl	Br	J	$C_2H_3O_2$	H_2PO_4	SO_4
NH_4	+	+	+					+
K	+	—	—	—	—	+	—	—
Na		—	—	—				—
Li			—					
Mg		=	=					=
Ba			+					
Sr		=	=					
Ca			=					

Man sieht aus Tabelle VI, daß die Wirkung der Salze auch bei gleichen p_H-Werten ungleich ist und besonders, daß 1. a) die NH_4-Salze und Rhodanide wiederum das Durchdringen der H˙-Ionen *fördern*; b) daß zu den *fördernden* Salzen sich noch CH_3COOK zugesellt hat. Um dieses Salz (CH_3COOK) mit der Säure vom p_H 7,3 bis p_H 3,2 zu bringen, muß man verhältnismäßig viel 1 n HCl verbrauchen. Die hemmende Wirkung des CH_3COOK (in Tabelle II und IV) ist dadurch zu erklären, daß es als Puffer die H˙-Ionen neutralisiert (p_H 7,3). In neutralen und alkalischen Lösungen übt CH_3COO'-Ion keine giftige Wirkung auf das Pflanzenplasma, während in sauren Lösungen die Wirkung schon giftig ist. Nach *Brenner* hängt die giftige Wirkung von dem undissoziierten Teile der CH_3COOH ab. Aus den von *Loeb* veranstalteten Versuchen mit Eiweißkörpern ist ersichtlich, daß die Quellung der Gelatine mit CH_3COOH bei p_H 3,2 größer ist, als mit anderen Säuren bei denselben p_H. So kann also das schnelle Eindringen der H˙-Ionen bei CH_3COOK verschiedene Gründe bei p_H 3,2 haben; 2. daß Hemmung der Ba-Salze ($BaCl_2$) am Anfange sehr unbedeutend, folglich — geringer geworden ist; 3. a) daß *die Hemmung* der K-, Na- und Li-Salze (außer den erwähnten Rhodaniden und Acetaten) fast ganz gleichmäßig und unabhängig von den Anionen ist. Ob hier wirklich

die individuelle Wirkung der Anionen ausbleibt, oder ob die feinsten Nuancen mit dem zu konzentrierenden Anthocyan nicht merklich zum Ausdruck kommen konnten, läßt sich vorläufig nicht mit Sicherheit entscheiden. b) daß Mg-, Sr- und Ca-Salze das Eindringen der $H^{\cdot}$-Ionen in das Plasma auch fast gleichmäßig und nur bedeutend stärker als Alkalisalze hemmen.

Es muß hier darauf hingewiesen werden, daß die bei gleichen p_H-Werten erhaltenen Versuchsresultate nicht im Einklang sind mit den von *Loeb* unter gleichen p_H-Bedingungen gefundenen Gesetzmäßigkeiten der Neutralsalzwirkung auf die Änderung des kolloiden Zustandes der Eiweißkörper (Gelatine, Caseine, Albumin, Edestin). Nach *Loeb* haben nur die Anionen der Neutralsalze nach ihrer Valenz die hemmende Wirkung bei der Änderung des kolloidalen Zustandes (osmotischer Druck, Quellung, Viskosität) der erwähnten Eiweißkörper, während die Kationen gar keine Wirkung ausüben. Es mußten also die Sulfate bei gleichem p_H (3,2) das Eindringen der $H^{\cdot}$-Ionen in das Plasma mehr hemmen (falls das Durchdringen der $H^{\cdot}$-Ionen überhaupt von den kolloidalen Zustandsänderungen des Plasmas abhängig ist!), als die Salze der einwertigen Säuren. Die Versuche bestätigen aber diese Vermutung nicht. Umgekehrt zeigen sie aber wohl, daß die zweiwertigen Kationen bedeutend mehr das Durchdringen der $H^{\cdot}$-Ionen herabsetzen, als die einwertigen Kationen.

B. Weil Salze, welche das Durchdringen der $H^{\cdot}$-Ionen förderten, eine *giftige Wirkung* auf das Pflanzenplasma ausübten, so wurde ihre Wirkung noch eingehender untersucht. Die Kontrollversuche wurden angestellt a) mit destilliertem Wasser, b) mit Säure und c) mit Salzlösungen. Die Versuchsdauer war 48 Stunden. Die Versuche zeigten folgendes:

1. Während die Schnitte im destillierten Wasser in 48 Stunden ganz gesund blieben, fingen in 0,1 n NH_4CNS-, $Ba(CNS)_2$- und NH_4Cl-Lösungen die Zellen an den Schnitträndern schon nach 15 bis 16 Stunden an zu sterben, wobei die Plasmolyse unregelmäßig wurde. Eine unregelmäßige Plasmolyse zeigten auch die Zellen in KCNS-Lösung, obgleich sie nach 48 Stunden nicht ganz ausblieb. In $Ca(NO_3)_2$-Lösung waren die Zellen nach 48 Stunden noch am Leben geblieben.

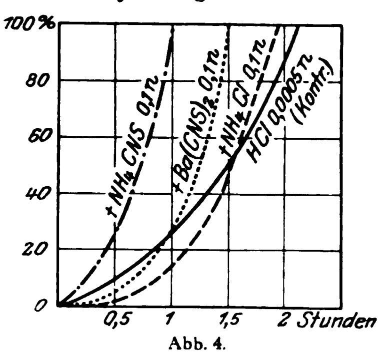


Abb. 4.

2. In 0,0005 n HCl-Lösung starben die Zellen im Verlauf von $1\frac{1}{2}$ bis 3 Stunden.

3. In 0,1 n Salz + 0,0005 n Säurelösungen starben die Zellen in 1 bis $2^1/_3$ Stunden, in 0,1 n Salz + 0,00075 n Säurelösungen < 1 bis $1\frac{1}{2}$ Stunden.

Hieraus ersieht man, daß die Giftwirkung der Salz + Säurelösung auf das Plasma 15- bis 20mal größer als die der reinen Salzlösung, und 1,5- bis 2mal größer als die der reinen Säurelösung ist.

Merkwürdig ist es noch, daß $Ca(NO_3)_2$ allein keine Giftwirkung auf das Pflanzenplasma ausübt, wohl aber mit der Säure.

Die Giftwirkungsverhältnisse einiger Salze sind auf den Abb. 4 bis 7 veranschaulicht.

Die Abb. 4 und 6 sind analog den vorigen Abbildungen gezeichnet; sie zeigen das Eindringen von H-Ionen. In den Abb. 5 und 7, die die Giftigkeit zeigen, ist auf den Ordinaten die Zahl der lebenden Zellen, auf den Abszissen die Versuchsdauer angegeben. Man ersieht aus ihnen, daß alle

hier angeführten Salze — außer NH_4CNS — am Anfange das Durchdringen der H˙-Ionen mehr oder weniger hemmen, später aber die Kontrollkurve durchschneiden und fördernd wirken, während das Sterben der Zellen in allen Salz + Säurelösungen größer ist, als in Kontrollsäurelösungen (Abb. 5 und 7).

Die Versuche, die mit den Haarzellen der Staubfäden von *Tradescantia virginica* ausgeführt wurden, zeigten, daß die Protoplasmaströmungen in giftig wirkenden Salz- + Säurelösungen (HCl + KCNS, NH_4CNS usw.) früher ausblieben, als der Anthocyanfarbenumschlag durch H˙-Ionen zustande kam. In reinen Säurelösungen (Kontrolle) wurde der Farbenumschlag des Anthocyans schon bemerkbar, als die Plasmaströmung sich durch die H˙-Ionenwirkung nur verlangsamt hatte.

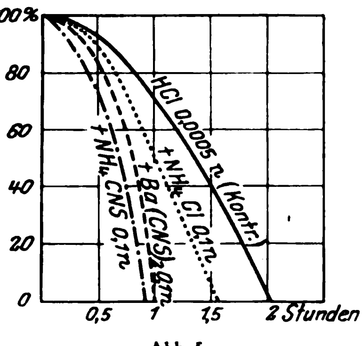




Abb. 5.

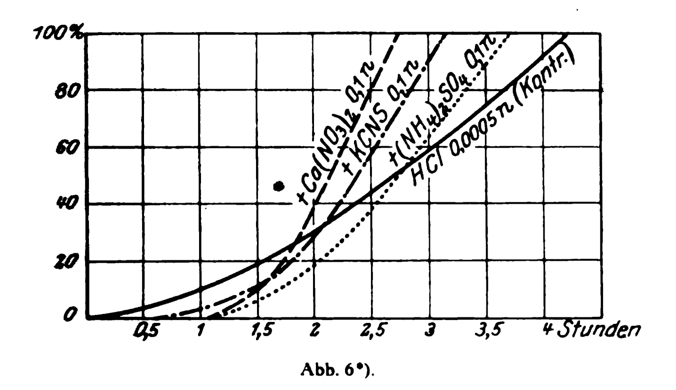


Abb. 6*).

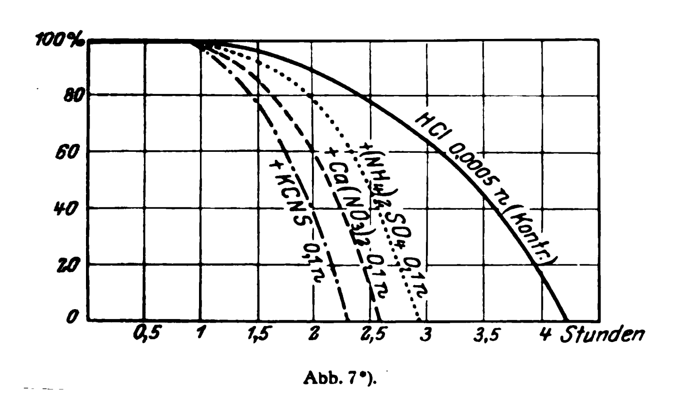


Abb. 7*).

*) Die Schnitte haben vor den Versuchen 60 Minuten im destillierten Wasser gelegen.

Kurze Zusammenfassung der Resultate.

1. Von den Neutralsalzen *fördern* das Durchdringen der H'-Ionen diejenigen, die selbst schnell in das Plasma eindringen und infolgedessen auch sehr giftig sind. Hierher gehören: NH_4CNS, NH_4NO_3, NH_4Cl, NaCNS, KCNS.

2. Im Anfang hemmen, nachher aber fördern, nachdem sie, in das Pflanzenplasma langsamer eindringend, es vergiftet haben, die Ba-Salze, $(NH_4)_2SO_4$, $Ca(NO_3)_2$.

3. Bei höheren Konzentrationen der H'-Ionen (p_H 3,2) üben die Acetate (CH_3COOK) auf das Plasma eine vergiftende Wirkung aus und fördern dadurch das Durchdringen der H'-Ionen.

4. Neutralsalze, welche leicht in das Plasma eindringen, beschleunigen die durch H'-Ionen bewirkte kolloidchemische Änderung, weshalb die Zellen in Säure + Salzlösungen schneller sterben als in reinen Salz- oder Säurelösungen.

5. Alkalisalze (außer den in Punkt 1 genannten) hemmen das Durchdringen der H'-Ionen in bezug auf Anionen in der Reihenfolge $NO_3 < Cl < Br, J < SO_4$, in bezug auf Kationen K, Na < Li < Rb < Cs. Bei gleichwertigen p_H ist die Hemmung dieser Salze fast gleich.

6. Die Salze der alkalischen Erden [außer Ba-Salzen, $Ca(CNS)_2$ und $Ca(NO_3)_2$], welche die Grenzschichten des Plasmas verdichten und selber schwer in die Zelle eindringen können, hemmen stark das Eindringen der H'-Ionen.

Literatur.

W. Biedermann, Über Wesen und Bedeutung der Protoplasmalipoide, Pflügers Arch. 1924. — *W. Brenner*, Ofversigt of Finska V. Soc. Forhandl. **60**, 17, 1918; Ber. d. deutsch. bot. Ges. **38**, 277, 1920. — *N. Cholodnyi*. Beih. z. bot. Zentralbl. **39**, 1923; Über den Einfluß der Metallionen auf die Reizerscheinungen bei den Pflanzen, Kiew 1918 (russisch). — *R. Collander*. Jahrb. f. wiss. Bot. **60**, 354, 1921. — *F. Czapek*, Biochem. d. Pflanzen 1913/21, Jena; Ber. d. deutsch. bot. Ges. **37**, 207, 1919. — *J. Endler*, diese Zeitschr. 1912, S. 440; **45**, 359, 1912. — *H. Fitting*, Jahrb. f. wiss. Bot. **56**, 1, 1915; **57**, 553, 1917. — *M. Fischer*, „Ödem" 1913, Moskau (russisch). — *R. Höber*. Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. Leipzig 1922/24. — *B. Hansteen-Cranner*, Jahrb. d. wiss. Bot. **53**, 536, 1913; Ber. d. deutsch. bot. Ges. **37**, 380, 1919. — *H. Kaho*, diese Zeitschr. **120**, 125, 1921; **123**, 284, 1921; **144**, 104, 1924; Acta et Comm. univ. Dorpatensis, A.V, S. 4, 1924. — *E. Küster* Jahrb. f. wiss. Bot. **50**, 261, 1912. — *W. W. Lepeschkin*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **28**, 99, 1910; **30**, 528, 1912; **29**, 247, 1911; **29**, 349, 1911.; The constancy of the Living Substance 1923, Praque; Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin 1924. — *J. Loeb*, Die Eiweißkörper und die Theorie der kolloidalen Erscheinungen. Berlin 1924. — *H. Lundegardh*, Über die Permeabil. der Wurzelsp. Vicia faba; Kungl. Svenska vetenskaps handlingar **47**, 3, 1911. — *D. T. Mac Dougal*, Permeability and the increase of

volum of contents of living and of artifical celles. Proc. of the Americ. phil. soc. **62**, 2, 1923; The arrangement and action of material in the plasmatic layers and cell-walls, ebendaselbst **63**, 1, 1924. — *W. Mevius*, Zeitschr. f. Bot., 16. Jahrg., 1924, S. 641. — *L. Michaelis*, Wasserstoffionenkonzentration 1, 1922, Berlin; Prakt. d. physik. Chem. Berlin 1922. — *W. J. W. Osterhout*, Jahrb. f. wiss. Bot. **55**, 645, 1914. — *Wo. Pauli*, Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. **7**, 1905; Kolloidchemie der Eiweißkörper. Dresden 1920. — *W. Pfeffer*, Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877. — *O. von Plotho*, diese Zeitschr. **110**, 1920. — *W. Ruhland*, Jahrb. f. wiss. Bot. **47**, 1909. — *Ruhland* und *Hoffmann*, Ber. d. Sächs. Akad. d. Wiss. zu Leipzig, Mathem.-physik. Kl. **76**, 47, 1924; Arch. f. wiss. Bot. **1**, 1, 1925. — *R. Schaede*, Jahrb. f. wiss. Bot. **62**, 65, 1923. — *J. Spek*, Acta Zoologica 1921. — *J. Szücz*, Jahrb. f. wiss. Bot. **52**, 85, 1912. — *A. Tröndle*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **47**, 1919; Jahrb. f. wiss. Bot. 48, 171, 1910; Beih. z. bot. Zentralbl. 1921. — *H. Walter*, Jahrb. f. wiss. Bot. **62**, 145, 1923; Zeitschr. f. Bot., 16. Jahrg., 1924, S. 353.

Untersuchungen über die Regulierung der Wasserstoffionenkonzentration im Organismus durch die Darmwand.

Von

J. Helzer.

(Aus der medizinischen Universitäts-Poliklinik Zürich.)

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Mit 17 Abbildungen im Text.

Anlaß zu dieser Arbeit gab das Ergebnis der Untersuchungen von *G. Schaudt* (1) über die *Wasserstoffionenkonzentration* der menschlichen *Fäzes.*

Schaudt zeigt an zwei Beispielen, daß auf eine Säuregabe per os hin, mit gleichzeitiger Stuhlabgrenzung durch Carmin, die Fäzes sauer oder doch saurer werden, *bevor* noch der eingenommene Farbstoff darin ausgeschieden wird. Es war nun unser Bestreben, festzustellen, ob es sich dabei um eine Resorption von Säureionen durch die Darmwand im oralen, und gleichzeitige, die Wasserstoffionenkonzentration des Organismus regulierende Ausscheidung von H-Ionen im anal gelegenen Abschnitt des Darmes handle, oder ob die Säuerung in den tieferen Darmpartien durch einfache Diffusion der Säureionen in analer Richtung bewirkt werde. Als dritte Möglichkeit ist noch eine mangelhafte Alkalisierung der Fäzes in Betracht zu ziehen, da diese infolge der durch die Säure bewirkten Peristaltik*beschleunigung* viel kürzere Zeit im Darme verweilen, und die alkalischen Sekrete der Verdauungsdrüsen deswegen weniger Gelegenheit haben, den Darminhalt zu neutralisieren und zu alkalisieren.

Bei solcher Betrachtungsweise ist nun die Feststellung interessant, ob der Darmwand die gleiche aktive Rolle als Ausscheidungsorgan für H- und OH-Ionen zukommt, wie sie bei Niere, Haut und Lunge heute bereits allgemein anerkannt wird. Gelingt es, eine solche spezifische Fähigkeit der Darmwand nachzuweisen, so wird dadurch die paradoxe Veränderung der Urinreaktion, die *W. Arnoldi* und *A. Benatt* in ihrer Darstellung vom *Verhalten* der *Puffersubstanzen im Organismus* anführen, auf einfache Weise erklärt. Diese Autoren zeigen nämlich, daß die *Urin*acidität, die sie, auf *intravenöse* Injektion von 1 g Natrium bicarbonicum (in 10proz. Lösung), immer gegen die alkalische Seite hin verschoben fanden, nach Darreichung *per os* aber bei den verschiedensten Affektionen oft gleich bleibt oder sogar verstärkt wird. Sie suchen dies der Wirkung von Puffersubstanzen in der Körperflüssigkeit zuzuschreiben.

Wir glauben nun durch unsere Untersuchungen darlegen zu können, daß solche Verhältnisse natürlicher und einfacher mittels *Kompensierung* und *Überkompensierung durch die Darmwand erklärt werden können.* Der Nachweis der *aktiven Ausscheidungstätigkeit* der Darmwand wirft auch interessante Schlaglichter auf die Stoffwechselvorgänge bei Niereninsuffizienz, indem der bei dieser auftretende Mangel an Regulierungsmöglichkeiten zum Teil durch den Darm ausgeglichen werden kann. Soweit wir die Literatur übersehen können, sind dahingehende Untersuchungen, die die Darmausscheidung wesentlich mit berücksichtigen, bis heute nicht erschienen.

Technik.

Voraussetzung für die Brauchbarkeit der zu verwendenden Versuchspersonen war folgendes: Es kamen nur darmgesunde Personen in Betracht, die im Tage womöglich eine bis mehrere Stuhlportionen zu liefern imstande waren. Außerdem war ein genügendes Interesse der Betreffenden für die Untersuchungen unumgänglich notwendig, weil eine der größten Schwierigkeiten darin bestand, schon ganz geringfügigen Stuhldrang warzunehmen und demselben sofort nachzugeben, da sich natürlich durch die Sekrete der Verdauungsdrüsen die Aciditätsänderungen in den analen Darmabschnitten um so vollständiger ausgleichen und verwischen können, je länger eine Stuhlpause besteht. Außerdem stellte sich in der Folgezeit heraus, daß bezüglich der Empfindlichkeit der Reaktionsveränderung im Darminhalt mit merkbaren individuellen Unterschieden zu rechnen ist.

Wir hatten nun das Glück, daß sich die erste Versuchsperson, *J. H.*, die 24 Jahre alt ist, infolge des Zusammentreffens aller eben aufgeführten Voraussetzungen sehr gut eignete. Außerdem wurden die Untersuchungen noch an einem anderen jungen Manne, *A. W.*, ausgeführt, der 20 Jahre zählte und ebenso wie der Verfasser sich vollständiger Gesundheit erfreut. Die einzelnen analogen Experimente wurden *nacheinander* ausgeführt, um eventuelle Ergebnisse berücksichtigen zu können.

Es wurde von beiden Versuchspersonen während 16 Tagen eine Standardkost eingehalten, die sich folgendermaßen zusammensetzte:

8 Uhr: 500 g Milch, 250 g Kaffee, 100 g Brot, 20 g Butter, 30 g Gelee.

12 Uhr: 250 g Suppe (Erbsen mit Sago, Maggisuppen), 125 g Kalbfleisch in 20 g Butter gebraten, 100 g Kartoffeln, 100 g rohe Äpfel, 100 g Brot.

18 Uhr: 250 g Bouillon, 250 g Milch, 2 Eier (Rühreier oder Spiegeleier), 100 g Brot.

Diese Kost wurde ohne Zwang ertragen. Der Verfasser nahm dabei um 2 kg ab, während die Versuchsperson *A. W.* um 2 kg an Körpergewicht zunahm. Dies wird man bezüglich einiger Unterschiede in den beiden Versuchsergebnissen in Berücksichtigung ziehen müssen. Weitere Flüssigkeitszufuhr wurde je nach Bedarf in Form von gewöhnlichem Trinkwasser gewährt und nicht in Betracht gezogen, da Verdünnungen die Konzentration der Wasserstoffionen bei Verhältnissen, wie sie im menschlichen Organismus vorherrschen, nach den Ausführungen von *Clark* und *Michaelis* fast nicht verändern.

Zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration wurde mit einigen technischen Verbesserungen die gleiche Methode verwendet, wie sie *G. Schaudt* gebrauchte, d. h. eine *Indikatorenmethode mit Puffern.* Als

Indikatoren wurde die von *Clark* und *Lubs* angegebene Reihe benutzt, als Stammpufferlösungen dienten die Borat-Salzsäure-, Citrat-Natronlauge- und Phosphatgemische nach *Sörensen*. Die Ablesungen wurden am *Walpole*-Komparator gemacht. Um die H-Ionenausscheidung durch die Darmwand mit derjenigen der Niere vergleichen zu können, wurde die Wasserstoffionenkonzentration zugleich in Stuhl und Urin gemessen. Es haben sich daraus denn auch wichtige Beziehungen ergeben.

Durch Verreiben im Mörser mit physiologischer Kochsalzlösung und nachfolgendem Zentrifugieren wurde eine $^1/_{20}$ Stuhlaufschwemmung hergestellt, die dann zur Erzielung der nötigen Durchsichtigkeit zu einer $^4/_{1000}$ Aufschwemmung mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt wurde. Wir bestimmten die H-Ionenkonzentration sowohl am oralen als auch am analen Ende der betreffenden Stuhlportionen, um über die Verschiedenheit der Acidität im Darminhalt derselben Defäkationszeit unterrichtet zu sein. Der Urin wurde zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Zur Stuhlabgrenzung dienten abwechslungsweise Carmin und Indigo in Stärkekapseln zu 0,4 g.

Die Kritik der Methode ist bereits von *Schaudt*[1]) erledigt worden, und die nachfolgenden Resultate geben ihm recht. Bezüglich weiterer Details des technischen Vorgehens verweise ich auf seine Arbeit.

Die Ergebnisse der nachfolgenden Untersuchungen wurden durch Kurven graphisch dargestellt, auf deren Abszisse die Zeit, auf deren Ordinate die Wasserstoffionenkonzentration in p_H-Werten eingetragen sind. Die interessanteren Abschnitte der Gesamtkurven wurden einzeln und vergrößert wiedergegeben. Die Quantität der im Stuhl ausgeschiedenen Abgrenzungsfarbstoffe ist mit Kreuzen angedeutet, die über die jeweilige Bezeichnung gesetzt wurden, die Pfeile bezeichnen die Zeit, zu welcher die verschiedenen Säure- bzw. Alkaligaben erfolgten.

Durchführung der Untersuchungen.

1. Vorperiode.

Auf der Gesamtkurve (S. 128) *J. H.* sehen wir oben die Tageskurven, die den drei ersten Versuchstagen entsprechen. Der Darminhalt wurde am ersten Tage um 8 Uhr durch 0,4 g Indigo abgegrenzt. Die sauren p_H-Werte des Stuhles (ausgezogene Linie), $p_H = 6{,}16$ und 6,24, in diesen Anfangstagen sind wohl durch den Übergang von der gemischten Kost zur Standardkost verursacht. Die alkalische Reaktion der Fäzes vom dritten Tage um 9 Uhr, $p_H = 8{,}04$, die bereits durch Indigo stark gefärbt waren, ist durch die vorausgegangene Obstipation erklärlich, denn wie aus den Untersuchungen von *Schaudt* und der von ihm zitierten Autoren hervorgeht, weist der Obstipationsstuhl stark alkalische, der diarrhoische Stuhl aber saure Werte auf, entsprechend der langen bzw. kurzen Beeinflussung der Fäzes durch die alkalischen Verdauungssäfte. Die Stühle am Abend des dritten und Morgen des vierten Tages zeigen nun die schwach alkalischen Werte

[1]) Diese Zeitschr. **166**, 136, 1925.

$p_H = 7,38$, die, abgesehen von den geringen normalen Schwankungen, als die der verwendeten Standardkost entsprechende Acidität angesehen werden müssen. Die Farbe der von Abgrenzungsfarbstoffen freien Fäzes blieb bei beiden Versuchspersonen durch die ganze Zeit hindurch gelbbraun bis braungelb.

Die *Urin*kurve *J. H.* zeigt am dritten Tage einen Verlauf, wie er mehreremal während der Versuchsdauer wiederkehrt. Sie steigt von den sauren Werten des Morgenharns, $p_H = 5,44$ und 5,67, während des Tages auf $p_H = 6,35$, um gegen Abend und über Nacht wieder auf $p_H = 5,57$ und 5,44 zu sinken, und gleicht so der normalen Tageskurve, die *H. W. Veil* beschrieben hat. Die feineren Tagesschwankungen sind bei unserer Darstellung nicht sichtbar, da der Urin nicht in genügend kleinen Portionen aufgefangen wurde, was für unsere Untersuchung nicht notwendig war.

Die Gesamtkurve *A. W.* zeigt an den drei Anfangstagen die stark alkalischen Werte des Stuhles $p_H = 8,79$, 8,36 und 8,89. Die Fäzes weisen bei dieser Versuchsperson viel häufiger alkalische Reaktion auf, was offensichtlich die individuellen Unterschiede dokumentiert. Die Urinkurve zeigt mit ungefähr gleichen Werten wie bei *J. H.* drei fast kongruente Tageskurven, was durch das sehr regelmäßige Leben des Jünglings als Angestellter des Instituts erklärlich ist.

2. *Säureversuche.*

Kurve I, *J. H.*, stellt nun den Säureversuch dar, der am vierten Tage durchgeführt wurde. Die Versuchsperson *J. H.* nahm um 10 Uhr

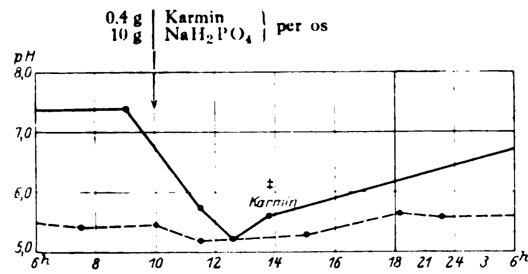


Abb. 1. 4. Versuchstag. (Kurve I, *J. H.*) Säuerungsversuche; Zufuhr per os.
Stuhl-p_H-Kurve ausgezogen. Urin-p_H-Kurve gestrichelt. p_H-Werte durch Ordinate, Zeit durch Abszisse dargestellt. Nach Darreichung von prim. Natr. phosphat (Pfeile) sinkt die Stuhl-p_H-Kurve, bevor noch der Abgrenzungsfarbstoff Karmin im Stuhl ausgeschieden wird. Die sonst normalen Tageserhebungen der Urin-p_H-Kurve bleiben aus.

zugleich mit einer Carminkapsel 10 g primäres Natriumphosphat (NaH_2PO_4) in Wasser mit etwas Syrupus rub. Idaei gelöst, zu sich, was auf der Kurve durch den Pfeil angedeutet ist. Während der 1 Stunde

zuvor ausgeschiedene Stuhl eine $p_H = 7,38$ aufgewiesen hatte, stürzt nun die Stuhl-p_H-Kurve $1\frac{1}{2}$ Stunden nach der Säureverabreichung auf einen Wert von $p_H = 5,75$, eine weitere Stunde später auf $p_H = 5,21$ ab. Der erste dieser beiden Stühle, dessen Ausscheidung eine halbe Stunde unterdrückt werden mußte, da die Versuchsperson sich auf der Straße befand, war dickbreiig, der zweite dünnflüssig; beide enthalten noch keine Spur von Carmin. Erst die um 13 Uhr 45 Minuten, also 45 Minuten nach dem zweiten sauren Stuhl entleerten Fäzes, die bei dünnflüssiger Konsistenz eine p_H von 5,67 aufwiesen, waren durch Carmin rot gefärbt.

Auch die Urin-p_H-Kurve sinkt ein wenig. An ihr ist jedoch charakteristisch, daß sie den ganzen Tag hindurch die stark sauren Werte $p_H = 5,44$, 5,44, 5,21, 5,31, 5,64 und 5,57 aufweist, die täglichen, sonst normalen Erhebungen also fast vollständig vermissen läßt.

Es war nun unser Bestreben, die Ursache der Säuerung der carminfreien Stühle, die ja nicht den zur Zeit der Säureeinnahme, sondern den am vorangegangenen Tage genossenen Mahlzeiten entsprechen, festzustellen.

Es wurden deshalb der zweiten Versuchsperson, *A. W.*, am Tage vor ihrem Säureversuch, um 17 Uhr 30 Minuten, 150 g Bariumsulfat in dickem Brei verabreicht, um so mitsamt den beiden folgenden Mahlzeiten eine vor dem Röntgenschirm leicht nachweisbare Barriere für die am vierten Versuchstag aufzunehmende Säure zu schaffen.

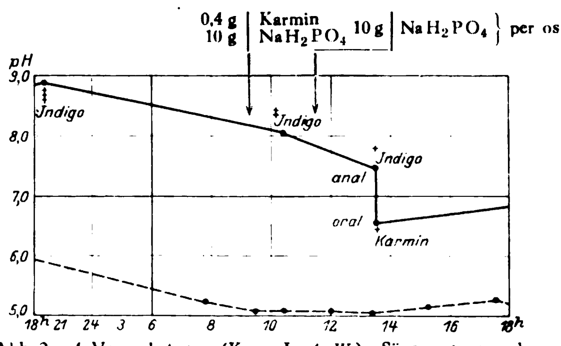


Abb. 2. 4. Versuchstag. (Kurve I, *A. W.*) Säuerungsversuche; Zufuhr per os.
Stuhl-p_H-Kurve ausgezogen, Urin-p_H-Kurve gestrichelt. p_H-Werte durch Ordinate, Zeit durch Abszisse dargestellt. Nach Darreichung von prim. Natr. phosphat (Pfeile) sinkt die Stuhl-p_H-Kurve, bevor noch der Abgrenzungsfarbstoff Karmin im Stuhl ausgeschieden wird. Die sonst normalen Tageserhebungen der Urin-p_H-Kurve bleiben aus.

A. W. erhielt darauf am nächsten Tage um 9 Uhr 20 Minuten 10 g NaH_2PO_4 per os zusammen mit einer Carminkapsel. Zu dieser Zeit hatte sich das Bariumsulfat bereits im Dickdarm angesammelt, und um 9 Uhr 50 Minuten konnte man bei fortlaufender Untersuchung vor

dem Schirm konstatieren, daß die Ampulle des Rectums stark gefüllt war. Um 10 Uhr 20 Minuten, also 1 Stunde nach der Säureverabreichung, erfolgte nun eine Defäkation. Der zutage geförderte Darminhalt war gut geformt, absolut carminfrei, war im Gegenteil noch durch das vor drei Tagen gegebene Indigo grünlich gefärbt und zeigt eine Acidität von $p_H = 8{,}04$, d. h. war um 0,85 *saurer* als die Reaktion des letzten Stuhles. Nur das orale Ende des Kotzylinders enthielt Bariumsulfat.

Nach dieser Defäkation zeigte sich vor dem Schirm um 10 Uhr 25 Minuten das Colon ascendens und das Colon descendens noch stark von Kontrastmasse erfüllt, während das Colon transversum durch Spasmen stark kontrahiert war, was sich auch subjektiv durch Leibschmerzen kund tat. Um 11 Uhr 5 Minuten blieb das Bild unverändert, nur der Spasmus hatte sich gelöst. Daraufhin erhielt die Versuchsperson *A. W.* um 11 Uhr 30 Minuten *noch einmal* 10 g primäres Natriumphosphat per os. Erst um 13 Uhr 20 Minuten konnte ein weiterer Stuhl entleert werden, der zwei verschiedene Portionen aufwies, eine anale, gut geformte, mit einer p_H von 7,49, und eine orale, dickflüssige, mit einer p_H von 6,55; beide durch Bariumsulfat von gelblich kreidigem Aussehen, erstere noch Indigo enthaltend, während die letztere nun bereits allerfeinste Spuren von Carmin zeigte. Von hier an muß also direkt mit dem per os gegebenen NaH_2PO_4 gerechnet werden. Durch die Durchleuchtung konnten wir nachweisen, daß das Colon descendens noch immer stark mit Bariumsulfat gefüllt war, während das Colon ascendens und transversum bereits sehr stark aufgehellt erschienen.

Auch bei *A. W.* zeigt die Urin-p_H-Kurve dieses Säureversuchstages durchwegs saure Werte zwischen $p_H = 5{,}11$ und 5,44 und läßt die sonst normalen Tageserhebungen vermissen.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß in beiden Fällen die *vermehrte Acidität der ersten carminfreien Stühle*, die bei beiden Versuchspersonen, wenn man die bei *J. H.* erwähnten Umstände berücksichtigt, 1 Stunde nach der Säuregabe entleert wurden, *nicht* auf einem Erscheinen des per os gegebenen Natriumphosphats im Kot beruhen kann. Auch für eine Diffusion der Säureionen durch das Darmlumen bzw. den Darminhalt ist die Zeitspanne von 1 Stunde zu kurz. Durch ein späteres Experiment wurde dies noch weiter erhärtet. Es wurde einer Versuchsperson gleichzeitig 0,4 g Indigo und 0,4 g Phenolphthalein per os gegeben. Während das Indigo vollständig wasserunlöslich ist, löst sich das Phenolphthalein im Darminhalt zum großen Teil und erzeugt Diarrhöe. Nach 1½ Stunden wurde ein von Phenolphthalein und von Indigo freier Stuhl entleert, nach einer weiteren Stunde wurden *beide Farbstoffe* in breiiger Entleerung ausgeschieden. Das gelöste Phenolphthalein, das vermittels seines Farbumschlags durch Alkalizusatz in der Stuhlaufschwemmung leicht nachgewiesen werden konnte,

vermochte also nicht, trotz der breiigen Beschaffenheit der Fäzes durch Diffusion dem unlöslichen Indigo eine größere Strecke im Darm vorauszueilen.

Während der beiden früher beschriebenen Versuche zeigte es sich, daß das Carmin bei beiden Versuchspersonen in etwas weniger als 4 Stunden im Stuhle erschien, was auf den Kurven I *J. H.* und I *A. W.* ersichtlich ist. Die Darmperistaltik wurde also wesentlich beschleunigt. Dieses Moment kommt aber hier nicht zu seiner vollen Auswirkung, da jeweilen der erste Stuhl nach der Säuregabe einem Speisebrei entspricht, der schon viel längere Zeit vor dem Einnehmen des NaH_2PO_4 im Darme weilte, was aus dem Versuch *A. W.* mit dem Bariumsulfat klar hervorgeht. Außerdem ersahen wir aus einer gleichzeitigen Beobachtungsreihe, bei der wir an darmgesunden Individuen das Sinken der Stuhl-p_H nach Darreichung von Abführmitteln beobachteten, sowie aus den ähnlichen Untersuchungen von *Schaudt*, daß der ungenügenden Einwirkung der Verdauungssäfte auf die Fäzes eine viel geringere Säurezunahme im Kot zugeschrieben werden muß als die von uns im Säureversuch beobachtete. Etwa zwei Drittel des in den auf Kurve I *J. H.* und I *A. W.* dargestellten Experimenten erfolgten Absturzes der p_H-Kurve des Stuhles muß auf Konto einer *aktiven Resorptions- und Ausscheidungstätigkeit der Darmwand gesetzt werden.* Die folgenden Untersuchungen werden das weiter erhärten.

Auf der Gesamtkurve *J. H.* (Abb. 11) ist ersichtlich, daß die Säureionenausscheidung im Stuhl am fünften Versuchstage noch weiter anhält. Der Stuhl weist eine Nachschwankung der Acidität von $p_H = 6{,}98$, 6,24 und 5,75 auf, bei der man jedoch den speziellen Anteil der aktiven Darmwandtätigkeit von dem der beschleunigten Darmperistaltik nicht mehr isolieren kann, da die Fäzes dauernd Carmin enthalten. Am sechsten Versuchstage tritt keine Darmentleerung ein, der am siebenten Tage um 9 Uhr erhaltene alkalische Wert von $p_H = 8{,}13$ kann deshalb als Obstipationswert gut erklärt werden.

Gesamtkurve *A. W.* (Abb. 15) zeigt, daß auch hier die Säureausscheidung fortgesetzt wird. Hier haben wir bis zum Vormittag des siebenten Versuchstages die Aciditätswerte von $p_H = 6{,}81$, 6,81, 6,35, 6,24 und 6,16. Auf beiden Darstellungen nimmt am sechsten Versuchstage die Urin-p_H-Kurve wieder annähernd normale Gestalt an.

3. *Alkaliversuche.*

Zur Prüfung der *Hydroxylionenausscheidung* wurde der Versuchsperson *J. H.* am siebten Tage um 10 Uhr 20 g Natrium bicarbonicum zusammen mit einer Indigokapsel per os gegeben. Kurve II *J. H.* zeigt nun einen geringen Anstieg der Stuhl-p_H auf eine Alkaleszenz von $p_H = 8{,}27$ um 11 Uhr 20 Minuten, was in Anbetracht dessen,

daß der an und für sich schon hohe Wert des vorherigen Obstipationsstuhles noch etwas überboten wurde, bedeutsam ist und eine durch die Alkaliaufnahme bedingte aktive Vermehrung der OH-Ionenausscheidung durch die Darmwand sehr wahrscheinlich macht. Der nächste, um 16 Uhr 30 Minuten ausgeschiedene Stuhl, weist zwei differente Portionen auf, eine *anale*, indigofreie und gut geformte, mit einer p_H von 8,04, und eine orale, breiige, bereits stark indigohaltige Partie, deren Alkaleszenzwert nur noch $p_H = 7{,}47$ beträgt. Dieses nachträgliche Absinken der Kurve erklärt sich durch die starke Beschleunigung der Darmpassage, die durch das Natriumbicarbonat verursacht wurde. Das Indigo kam bereits in etwas mehr als 6 Stunden nach der Alkaliionenzufuhr wieder im Stuhle zum Vorschein. Die trotz dieses Umstandes eingetretene Alkalisierung des *vorletzten* Stuhles gewinnt dadurch noch an Bedeutung. Im weiteren Verlauf zeigt die Kurve wieder eine Nachschwankung in einer derjenigen der Säureionenausscheidung umgekehrten Richtung (Abb. 11). Bis zum zehnten Versuchstage um 9 Uhr 30 Minuten durchläuft sie die Werte $p_H = 7{,}73$, 8,04, 7,08, 7,38 und 7,56.

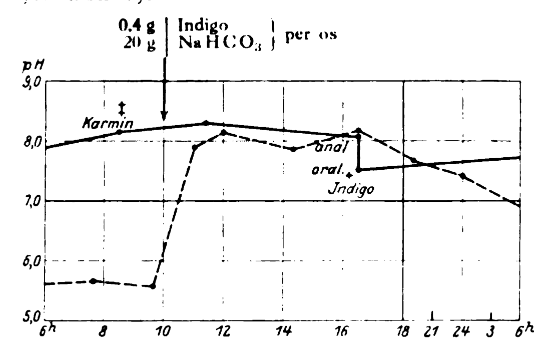


Abb. 3. 7. Versuchstag. (Kurve II, *J. H.*) Alkalisierungsversuche; Zufuhr per os.
Stuhl-p_H-Kurve ausgezogen, Urin-p_H-Kurve gestrichelt. p_H-Werte durch Ordinate, Zeit durch Abszisse dargestellt. Nach Einnahme von Natr. bicarbon. (Pfeil) wird der Stuhl alkalischer, bevor der Abgrenzungsfarbstoff Indigo ausgeschieden wird. Sehr starkes Steigen der Urin-p_H-Kurve.

Noch klarere Beziehungen zeigt die Stuhl-p_H-Kurve II *A. W.* Die Versuchsperson erhielt hier ebenfalls 20 g Natriumbicarbonat und eine Indigokapsel per os am siebten Versuchstage um 10 Uhr 10 Minuten. Während die Acidität des Stuhles um 10 Uhr noch $p_H = 6{,}16$ betragen hatte, stieg sie etwa 4 Stunden nach der Alkalidarreichung in gut geformten, indigofreien Fäzes auf den alkalischen Wert von $p_H = 7{,}47$, also mit einem Intervall im Sinne der Alkalisierung von 1,3. Durch Ausbleiben einer Peristaltikbeschleunigung gestaltete sich der weitere Verlauf der Kurve einfacher als bei der Versuchsperson *J. H.*

Immerhin zeigt der am neunten Tage erhaltene Wert $p_H = 7,56$ noch eine nur geringe Beeinflussung durch die früher gegebene, stark puffernde Säure, da man nach der Stuhlpause vom achten Tage hier einen alkalischeren Obstipationswert vermuten durfte.

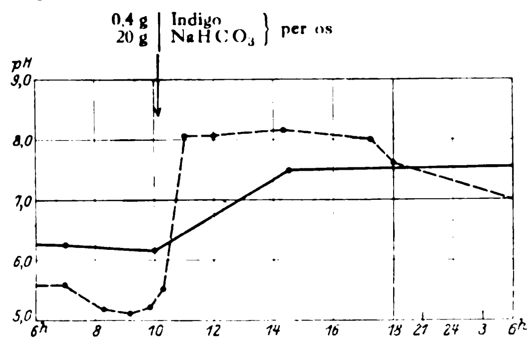


Abb. 4. 7. Versuchstag. (Kurve II. J. W.) Alkalisierungsversuche: Zufuhr per os.
Stuhl-p_H-Kurve ausgezogen, Urin-p_H-Kurve gestrichelt. p_H-Werte durch Ordinate, Zeit durch Abszisse dargestellt. Nach Einnahme von Natr. bicarbon. (Pfeil) wird der Stuhl alkalischer, bevor der Abgrenzungsfarbstoff Indigo ausgeschieden wird. Sehr starkes Steigen der Urin-p_H-Kurve.

Bei beiden Versuchen zeigt nun die Urin-p_H-Kurve ein frappantes Verhalten. In beiden Fällen steigt sie in weniger als einer Stunde über die 8,0 Linie, um den ganzen Tag hindurch auf dieser Höhe zu bleiben. Erst am Morgen des nächsten Tages stellen sich wieder saure Werte ein, die nach starken Schwankungen endlich am neunten Versuchstage wieder normale Tageskurven bilden.

Die beiden beschriebenen Versuche zeigen also ebenfalls einen zweifellosen Anteil der Darmwand an der Regulierung der Wasserstoffionenkonzentration, eine allerdings noch augenfälligere durch die Niere.

4. *Injektionsversuche.*

a) *Säuerung.* Schon als wir diese Arbeit begannen, waren wir uns vollauf bewußt, daß ein endgültiger Beweis für eine solche aktive H- bzw. OH-Ionenausscheidung der Darmwand nur durch *Injektionsversuche* geleistet werden kann. Zu diesem Zwecke wurden der Versuchsperson *J. H.* am zehnten Versuchstage, nachdem um 9 Uhr 30 Minuten ein Stuhl-p_H-Wert von 7,56 geliefert worden war, um 10 Uhr 20 ccm einer 4proz. wässerigen Lösung von primärem Natriumphosphat in die Cubitalvene injiziert und gleichzeitig eine Carminkapsel per os gegeben. Daraufhin erfolgte eine Stunde später eine Stuhlentleerung, aus der sich in breiigen, carminfreien Fäzes ein p_H-Absturz auf $p_H = 5,98$, also von 1,58 ergab. Bis um 9 Uhr 40 Minuten des folgenden Tages

stieg die Kurve durch einen carminhaltigen Stuhl auf $p_H = 7{,}64$. Dieser Versuch liefert also einen unanfechtbaren Beweis der oben auseinandergesetzten Auffassung der neutralitätsregulierenden Funktion der Darmwand (Kurve III).

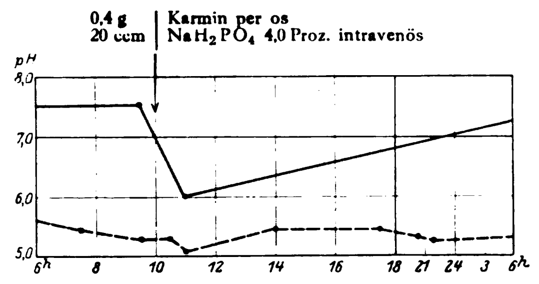


Abb. 5. 10. Versuchstag. (Kurve III, *J. H.*) Säuerungsversuche; Zufuhr intravenös.

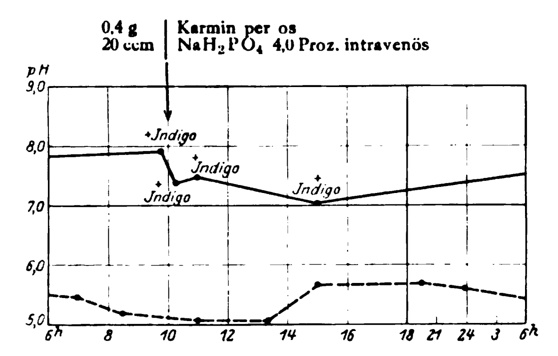


Abb. 6. 10. Versuchstag. (Kurve III, *A. W.*) Säuerungsversuche; Zufuhr intravenös.
Stuhl-p_H-Kurve ausgezogen, Urin-p_H-Kurve gestrichelt. p_H-Werte durch Ordinate, Zeit durch Abszisse dargestellt. Nach Injektion von 4 Proz. prim. Natriumphosphatlösung in die Kubitalvene (Pfeil) werden die Stühle saurer, bevor Abgrenzungsfarbstoff (Karmin) in den Fäces ausgeschieden wird. Die normalen Tageserhebungen der Urin-p_H-Kurve bleiben aus.

Ein ähnliches, aber weniger imposantes Resultat ergab das gleichartige Experiment mit *A. W.* Wir hatten hier die fatale Schwierigkeit zu überwinden, zu geeigneter Zeit eine genügende Entleerung zu erhalten. Um 10 Uhr des zehnten Versuchstages wurde auch hier die gleiche Menge der NaH_2PO_4-Lösung injiziert und eine Carminkapsel gegeben. Während um 9 Uhr 45 Minuten ein Stuhl mit einer p_H von 7,89 entleert worden war, zeigt die Kurve um 10 Uhr 15 Minuten Werte von $p_H = 7{,}38$, um 11 Uhr $p_H = 7{,}47$ und um 15 Uhr $p_H = 7{,}08$ an. Alle vier Stühle wiesen noch Indigospuren auf, die von der beim vorhergehenden Alkalisierungsversuch per os durchgeführten Stuhlabgrenzung herrührten. Erst am folgenden Tage um 16 Uhr 50 Minuten wurde

bei einer p_H von 8,13 zum erstenmal nach der Säureinjektion Carmin ausgeschieden.

Dieses Resultat ist als eine weitere Bestätigung unserer bisherigen Versuche aufzufassen. Es zeigt, daß auch beim *Injektionsversuch* die Stühle schon vor dem Erscheinen der zur Abgrenzung benutzten Farbstoffe die entsprechende Aciditätsveränderung aufweisen. In den beiden Parallelversuchen zeigt die Urin-p_H-Kurve stark gedämpfte Tageserhebungen, ohne aber eine Acidität von unter $p_H = 5,11$ aufzuweisen. Die Neigung zu saureren Werten als sonst bleibt auch am folgenden Tage bestehen.

b) *Alkalisierung.* Während die zwei letzten Untersuchungen durch die Kurven III *J. H.* und III *A. W.* vergrößert dargestellt sind, illu-

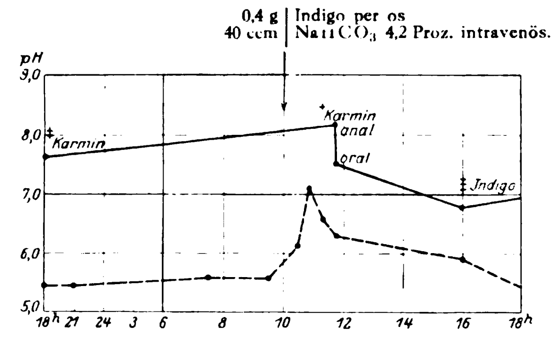


Abb. 7. 12. Versuchstag. (Kurve IV, *J. H.*) Alkalisierungsversuche: Zufuhr intravenös.

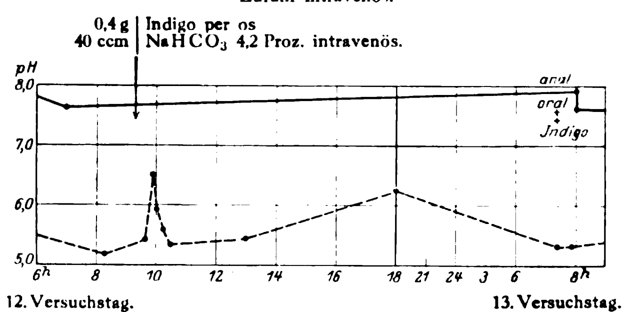


Abb. 8. (Kurve IV, *A. W.*) Alkalisierungsversuche; Zufuhr intravenös. Stuhl-p_H-Kurve ausgezogen, Urin-p_H-Kurve gestrichelt. p_H-Werte durch Ordinate, Zeit durch Abszisse dargestellt. Nach Injektion von 4,2 Proz. Natr bicarb.-Lösung (Pfeil) wird oben der Anstieg der Stuhl-p_H-Kurve gegen das Alkalische durch Beschleunigung der Darmperistaltik gehemmt, ist aber erkennbar, bevor der Abgrenzungsfarbstoff Indigo ausgeschieden wird. Die Urin-p_H-Kurve bildet schmale, hohe Zacken.

strieren IV *J. H.* und IV *A. W.* die analogen Alkalisierungsversuche durch *intravenöse Injektion.* Am 12. Tage wurden der Versuchsperson *J. H.* um 10 Uhr 15 Minuten 40 ccm einer 4,2proz. wässerigen Lösung

von Natrium bicarbonicum injiziert und eine Indigokapsel per os gegeben. Die um 11 Uhr 45 Minuten entleerten, indigofreien Fäzes ergeben einen Anstieg der Stuhl-p_H-Kurve auf $p_H = 8{,}13$ im analen Teile des Kotzylinders, während das orale Ende einen dem letzten Stuhl ähnlichen Wert von $p_H = 7{,}49$ aufweist. Diese Teilung in zwei verschiedene Aciditätsgrade bei einer und derselben Entleerung und das Sinken der Kurve auf $p_H = 6{,}73$ nach einer weiteren, stark indigohaltigen Defäkation um 16 Uhr, wurde durch die Beschleunigung der Darmperistaltik verursacht, was wiederum als Folge der Natriumbicarbonatinjektion anzusehen ist, die schon 6 Stunden später eine Ausscheidung des Indigos bewirkte. Die gleiche Erfahrung hat auch *G. Schaudt* gemacht.

Der analoge Versuch bei *A. W.* zeigte die Verhältnisse nur angedeutet, da innerhalb der nötigen Frist keine Defäkation möglich war. In beiden Fällen aber verläuft die Urin-p_H-Kurve sehr charakteristisch. Bei *J. H.* hat der Urin 20 Minuten nach der Alkaliinjektion eine Acidität von $p_H = 6{,}16$ erreicht, nach 30 Minuten 7,08; um 11 Uhr 25 Minuten ist sie wieder auf $p_H = 6{,}55$, um 11 Uhr 45 Minuten auf $p_H = 6{,}24$ gesunken. Ganz Ähnliches zeigt auch Kurve IV *A. W.* Die p_H-Werte für diese kurzdauernden, hohen Zacken konnten nur durch Lösen des Harns in kleinen Portionen erhalten werden, und es ist daher einleuchtend, daß nur wegen der naturgemäß zwischen den einzelnen Stuhlentleerungen liegenden langen Pausen der der Nierentätigkeit analoge Vorgang im Darme nicht mit gleicher Schärfe im Experiment festgehalten werden kann.

Wir machten als Abschluß unserer Arbeit noch Versuche durch Verabreichung von verdünnter *Salzsäure* per os aus der Überlegung heraus, daß man mit einer nicht puffernden Substanz ein weniger kompliziertes Bild der Wasserstoffionenregulation durch die Darmwand erhalten sollte. Dies führte denn auch zu einem unserer schönsten Versuche, der bei *J. H.* gelang und auf Kurve V *J. H.* eine getreue Illustration unserer theoretischen Vorstellung vom Ablauf dieser Vorgänge lieferte.

Wir erwarten kurz nach der Säuregabe per os folgenden Status: Im obersten Teile des Darmtraktus stark saure Reaktion durch die per os aufgenommene Säure. Weiter anal folgt eine Partie von geringer Acidität, weil die Säureionen den Weg durch das Darmlumen noch nicht zurückgelegt haben. Endlich erwarten wir im analsten Darmabschnitt wieder stark saure p_H-Werte, da die Darmwand hier die im oralen Teile absorbierten H-Ionen bereits wieder ausscheidet.

Eben diese Verhältnisse kommen in Kurve V *J. H.* genau zur Darstellung. Am 14. Versuchstage hatten wir im Stuhl um 8 Uhr 45 Minuten einen Wert von $p_H = 7{,}27$. Um 10 Uhr 30 Minuten wurden

20 Tropfen Acid. hydrochloric. dilut. auf 100 ccm Aqua dest. mit einer Carminkapsel per os verabreicht. Nach 20 Minuten erfolgte eine Defäkation von breiigem, carminfreiem Kot mit einer Acidität von $p_H = 5{,}67$, um 14 Uhr eine weitere, die sich aus zwei kurz aufeinander-

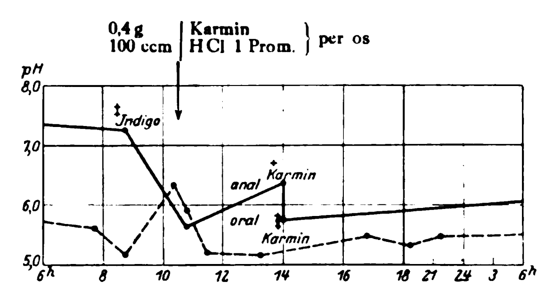


Abb. 9. 14. Versuchstag. (Kurve V, *J. H.*) Säuerungsversuch; HCl-Zufuhr per os.
Stuhl-p_H-Kurve ausgezogen, Urin-p_H-Kurve gestrichelt. p_H-Werte durch Ordinate, Zeit durch Abszisse dargestellt. Nach Einnahme von 20 Tr. acid. hydrochlor. dilut. in 100 ccm Wasser (Pfeil) wird 20 Minuten später ein stark saurer Stuhl entleert, bevor noch der Abgrenzungsfarbstoff Karmin ausgeschieden wird. Dieser erscheint erst $3^1/_2$ Stunden nach der Zufuhr der Säureionen; in dem betreffenden Stuhl ist die erste Portion weniger sauer, die zweite wieder stark sauer, was genau den Verhältnissen entspricht, die durch die aktive H-Ionenausscheidung der Darmwand bedingt werden.

folgenden Entleerungen zusammensetzte, wobei die erste, feinste Spuren von Carmin enthaltend, den wieder höheren Wert von $p_H = 6{,}35$, die zweite, vollständig rot gefärbt, den wiederum sauren Wert von $p_H = 5{,}75$ aufwies. Dieses Resultat scheint uns die Kette der Beweise zu schließen. Für den analogen Versuch zeigte sich *A. W.* trotz der doppelten HCl-Dosis nicht geeignet, da bei ihm während der kritischen Zeit eine Obstipation eintrat.

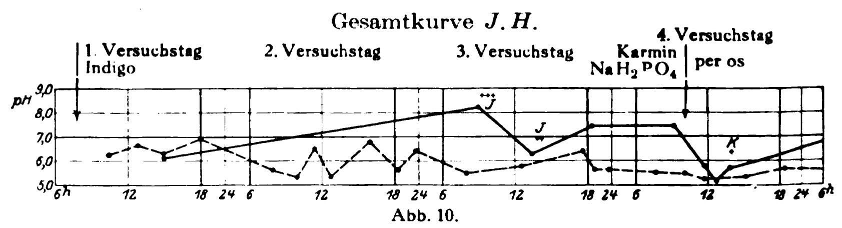


Abb. 10.

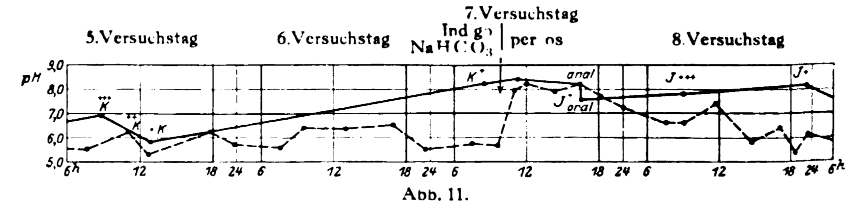


Abb. 11.

Gesamtkurve *J. H.* (Fortsetzung).

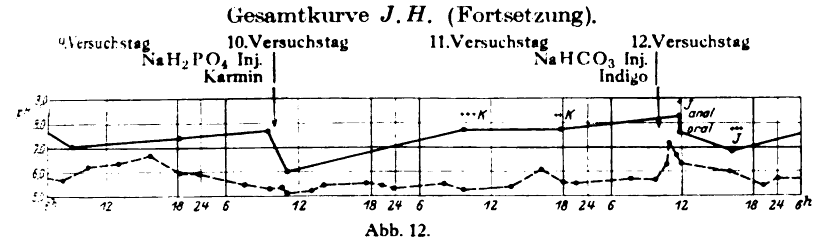


Abb. 12.

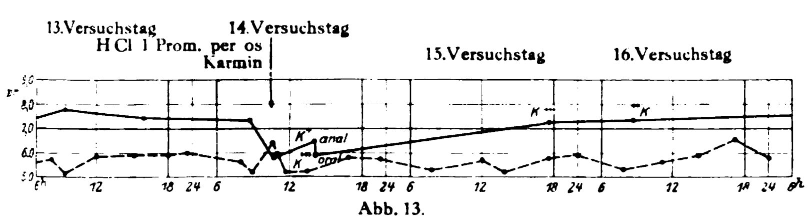


Abb. 13.

Gesamtkurve *A. W.*

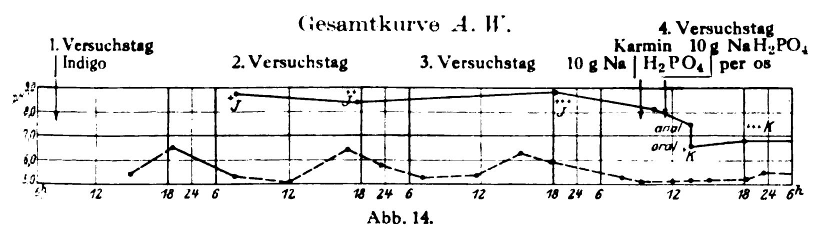


Abb. 14.

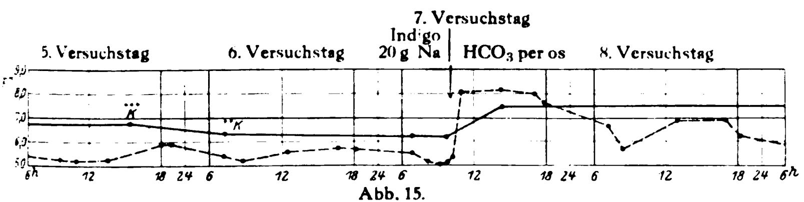


Abb. 15.

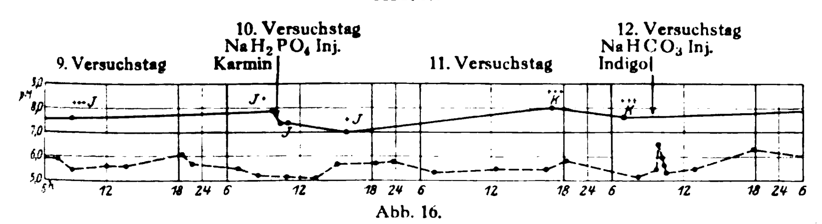


Abb. 16.

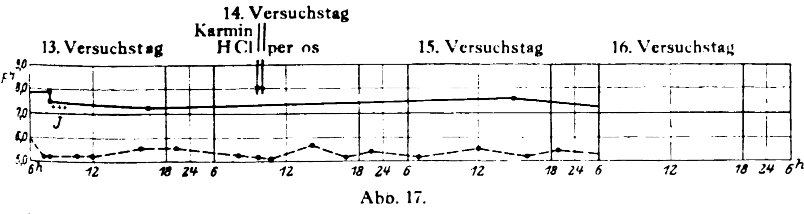


Abb. 17.

Zusammenfassung.

Aus der allgemeinen Betrachtung der beiden Gesamtkurven ergeben sich folgende Beziehungen:

1. Die normalerweise häufiger im basischen Bereich verlaufende Stuhl-p_H-Kurve, die ein einziges Mal als sauersten Wert $p_H = 5{,}21$ anzeigt, erreicht nie die alkalische Grenze $p_H = 9{,}0$. Die meist den sauren Bezirk durchziehende Urin-p_H-Kurve, die einigemal als alkalischsten Wert eine p_H von 8,13 aufweist, verläuft nie unterhalb der die Säuregrenze bildenden p_H-Linie 5,0.

2. Es ist ersichtlich, daß auf Zufuhr von Hydroxylionen, per os oder intravenös, jeweilen diejenigen Körperausscheidungen bezüglich ihrer Reaktion stärker in entsprechendem Sinne verändert werden, die vorher saure p_H-Werte gezeigt hatten, während auf orale oder perorale Säureionenzufuhr hauptsächlich die Darmwand durch Verstärkung der Stuhlacidität reagiert, während bei der Urin-p_H-Kurve nur die sonst normalen, täglichen Erhebungen vermißt werden. Zur Regulierung eines Überschusses bzw. eines Mangels an H-Ionen im Organismus scheint sich also dasjenige Ausscheidungsorgan jeweils besser zu eignen, dessen Sekrete bzw. Exkrete im entsprechenden Moment möglichst entgegengesetzte Reaktion zeigen.

3. *An diesen Vorgängen nimmt die Darmwand in ähnlicher Weise wie die Niere Anteil.*

Arbeitsprotokolle.

Versuchsperson *J. H.*						Versuchsperson *A. W.*					
Urin			Stuhl			Urin			Stuhl		
Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H	Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H
1. Versuchstag.											
8h 0,4 g Indigo.						8h 0,4 g Indigo.					
10h30′	210	6,20									
13	150	6,64				14h55′	350	5,44			
15	50	6,24	15h	200	6,16						
			Gelbbraun, weichgeformt								
19	240	6,89				18 20	270	6,47			
2. Versuchstag.											
						7 30	520	5,31	7h30′	85	8,79
8	460	5,57							Braun, hartgeformt anal. grüngelb, *oral*, weichgeformt, Indigo +		
						9	50	5,24			
10	100	5,31									
11 30	110	6,47									
12 45	50	5,31	Stuhlpause			12 10	130	5,11			
16	190	6,73				14 30	135	5,75			
						17	180	6,47	17 50	11	8,36
18 30	80	5,57							Blaugrün, festgeformt, Indigo + + +		
23	220	6,35				23 20	360	5,75			

Arbeitsprotokolle (Fortsetzung).

Versuchsperson *J. H.*						Versuchsperson *A. W.*					
Urin			Stuhl			Urin			Stuhl		
Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H	Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H
3. Versuchstag.											
Nb	280	5,44				7 20	290	5,27			
			9	120	8,04						
			Anal blaugrün, hartgeformt, Indigo + *oral* braungelb, festgef., Indigo								
12 30'	180	5,67				12 10	230	5,31			
			13 20	150	6,24						
			Weichgeformt, Indigo braungelb								
17 30	200	6,35									
						17h 30' 150 g Ba-Sulfat in dickem Brei					
						17 50	180	5,90			
19 40	70	5,57	19	70	7,38				19	80	8,89
			Weichgeformt, braungelb						Hartgeformt, braun, Indigo +		
23 30	150	5,57									
4. Versuchstag.											
7 30	200	6,35				7 50	530	5,24			
			9	90	7,38						
			Braungelb, geformt								
10 10 g NaH_2PO_4 + Carminkapsel						9h20' 10 g NaH_2PO_4 + Carminkapsel per os.					
10	150	5,44				9 30	60	5,11			
11 30	60	5,21	11 30	110	5,75	10 20	45	5,11	10 20	37	8,04
			Breiig, dickflüssig, braungelb						Grüngelb, fest Indigo + + *Oral* $BaSO_4$		
						11h30' 10 g NaH_2PO_4 per os.					
			12 30	175	5,21	12 05	80	5,11			
			Dünnflüssig, braungelb								
			13 45	215	5,67	13 20	60	5,11	13 20	170	
15	180	5,31	Dünnflüssig, braunrot, Carmin +			15 10	90	5,11	*Anal* weichgef., gelblich kreidig,		7,47
									Oral breiig, kreidig, Carmin +, $BaSO_4$		6,55
4. Versuchstag (Fortsetzung).											
18 15	190	5,64				17h30'	120	5,31			
						19	60	5,21	19h	120	6,81
						20	40	5,31	Breiig, rötlich kreidig, $BaSO_4$, Carmin + +		
22 30	130	5,57				22 30	220	5,44			
5. Versuchstag.											
7 40	400	5,57									
			9h	10	6,98	9 15	310	5,31			
			Gutgeformt, rot Karmin + + +			10 45	45	5,21			
11	170	6,24									
12 40	90	5,31	11	75	6,24	13 40	100	5,21	15 30'	203	6,81
18	300	6,24	Dickbreiig, rot Carmin + + +			19 10	370	5,90	Weichgeformt, blaßrot $BaSO_4$, Carmin + + +		
23 30	120	5,67				20 50	125	5,90			
			12 40	10	5,75						
			Breiig, braungelb, Carmin +								

Arbeitsprotokolle (Fortsetzung).

Versuchsperson *J. H.*						Versuchsperson *A. W.*					
Urin			Stuhl			Urin			Stuhl		
Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H	Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H
6. Versuchstag.											
7h40'	330	5,57	Stuhlpause			7 15	370	5,44	7 15	190	6,35
9 30	100	6,35				8 20	45	5,21	Weichgeformt, gelbbraun, rötlich $BaSO_4$. Carmin + + +		
13	200	6,35				12 30	200	5,57			
17	220	6,47				16 40	190	5,73			
22 30	130	5,57				19	180	5,67			
7. Versuchstag.											
7 40	410	5,67				7	390	5,57	7	194	6,24
9 90	80	5,57	8 30	90	8,13	8 15	60	5,21	Weichgeformt, gelbbraun		
			Festgeformt, rot Carmin + +			9 10	55	5,11	10	43	6,16
						9 50	50	5,21	Weichgeformt, gelbbraun		
10	20 g Natrium bicarbonicum + Indigokapseln.					10 10	20 g Natrium bicarbonicum + Indigokapseln per os.				
11	130	7,89	11 20	30	8,27	10 15	20	5,44			
			Festgeformt, braun			11	70	8,04			
12	145	8,13				12	20	8,04			
14 20	150	7,89				14 20	160	8,14	14 30	10	7,47
16 30	110	8,13	16 30	105					Festgeformt, gelbbraun		
			Anal hartgeformt, braun		8,04						
19	200	7,64	*Oral* weicher, blaugrün, Indigo + + +			17 15	190	8,04			
24	180	7,17			7,73	18	50	7,56			
8. Versuchstag.											
7 30	350	6,55				7 20	515	6,73	Stuhlpause		
9 10	60	6,55	9 10	63	7,73	8 30	20	5,75			
			Festgeformt, grüngelb, Indigo + + +								
11 40	100	7,33									
14 40	160	5,75				13 15	210	6,98			
17 10	70	6,35				16 50	310	6,96			
19 30	100	5,31	22 30	45	8,04	18 40	120	6,16			
22 30	110	6,07	Festgeformt, braungelb, Indigo +								
9. Versuchstag.											
7 30	400	5,67	8h30'	116	7,08	7h20'	470	5,90			
			Festgeformt, braungelb			8 50	80	5,47	8h50'	75	7,56
10	140	6,16							Gutgeformt, gelbbraun, grün durch Indigo + + +		
13	160	6,35				12	320	5,67			
15 40	209	6,64				13 40	100	5,57			
18 30	140	5,90	18 30	55	7,38	18 30	350	6,07			
			Weichgeformt, braungelb								
23 50	60	6,24				21 50	160	5,67			

Arbeitsprotokolle (Fortsetzung).

Versuchsperson *J. H.*						Versuchsperson *A. W.*					
Urin			Stuhl			Urin			Stuhl		
Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H	Zeit	ccm	p_H	Zeit	g	p_H
10. Versuchstag.											
7h30'	330	5,44				7	320	5,44			
9 30	70	5,31	9 30	51	7,56	8 30	60	5,21	9 45	140	7,89
			Weichgeformt, braungelb						Festgeformt, *anal* Indigo + + +, *oral* gelbh.		
10 Injektion: 20 ccm 4,0proz. NaH_2PO_4 + Carminkapsel						10 Injektion: 20 ccm 4proz. NaH_2PO_4 + Carminkapsel per os.					
10 35	70	5,31							10 15	9	7,38
									Weichgeformt, gelbbraun. Indigo +		
11	50	5,11	11	105	5,90	11	80	5,11	11	6	7,47
			Breiig. gelbbraum						Weichgeformt, gelbbraun. Indigo +		
13	130	5,21				13 20	130	5,11			
14	30	5,44				15	230	5,67	15	50	7,08
17 30	190	5,44							Weichgeformt, braungelb, Indigo +		
20	100	5,31				19 40	270	5,67			
22	90	5,21				23 50	250	5,75			
11. Versuchstag.											
8	350	5,44				7 15	210	5,31			
9 40	70	5,21	9 40	50	7,64						
			Festgeformt, rot Carmin + + +								
13 40	220	5,31				12 20	310	5,44			
16	170	5,98				16 30	290	5,44	16 50	90	8,13
									Festgeformt, *anal* braun Carmin + + +, *oral* rot		
18	125	5,44	18	32	7,64						
21	150	5,44	Festgeformt, rot Carmin + + +			19 10	310	5,75			
12. Versuchstag.											
									7	200	7,64
7 30	460	5,57				8 15	140	5,21	Weichgeformt, rot Carmin + + +		
9 30	80	5,57				9 30 Injektion: 40 ccm 4,2proz. $NaHCO_3$ + Indigokapsel per os.					
10 15 Injektion: 40 ccm 4,2proz. $NaHCO_3$ + Indigokapsel.						9 40	190	5,44			
10 35	170	6,16				9 50	60	6,47			
10 45	15	7,08				10	40	5,90			
11 25	35	6,55				10 10	30	5,57			
11 45	60	6,24	11 45	118		10 30	50	5,31			
			Anal festgef., rötlich		8,13						
			Carmin + + + *Oral* weichgef., braungelb		7,49						
16	190	5,90	16h	20	6,73	13h	220	5,44			
20	180	5,31	Weichgeformt, blaugrün, braun, Indigo + + +			18	470	6,24			
23 45	150	5,57									

Arbeitsprotokolle (Fortsetzung).

Versuchsperson *J. H.*						Versuchsperson *A. W.*					
Urin			Stuhl			Urin			Stuhl		
Zeit	ccm	p_H	Zeit	ccm	p_H	Zeit	ccm	p_H	Zeit	ccm	p_H
13. Versuchstag.											
7h30'	330	5,57				7 20'	590	5,31			
8 50	60	5,21	8 50	73	7,73	8	70	5,31	8	75	
			Anal festgeformt, braun, Indigo +++						*Anal* festgef., rötlich braun		7,89
			Oral weichgeformt, grünblau, Indigo +++						*Oral* weichgeformt, grün, Indigo +++		7,64
12	155	5,90				12	280	5,31			
15	180	5,90	15 50	75	7,38	16	260	5,57	16 20	125	7,27
18	130	5,90	Weichgeformt, gelbbraun, grün durch Indigo ++						Weichgeformt, gelbgrün, Indigo +++		
22 30	190	5,98				20	160	5,57			
14. Versuchstag.											
7 45	390	5,57				8	250	5,21			
8 45	50	5,21	8 45	156	7,27	9 30	120	5,21			
			Weichgeformt, braungelb, Indigo +			9 50 20 Tropfen acid. hydrochlor. dilut. auf 100 ccm Wasser + Carminkapsel per os.					
10 25	70	6,35									
10 30 20 Tropfen acid. hydrochlor. dilut. auf 100 ccm Wasser + Carminkapsel.						10 10 20 Tropfen acid. hydrochlor. dilut. auf 100 ccm Wasser.					
10 50	30	5,90	10 50	23	5,67	10 30	80	5,11			
11 30	40	5,21	Breiig; gelbbraun								
13 15	70	5,21	14	55		14	200	5,75	Stuhlpause		
			Anal breiig, gelbbraun, Karmin +		6,35						
16 50	190	5,75	1 Minute später *oral* breiig, rot, Carmin +++		5,75	16 40	140	5,21			
19	130	5,57									
22	150	5,75				21 30	230	5,44			
15. Versuchstag.											
7 40	330	5,31				7	320	5,44			
12	220	5,67				12	130	5,44			
13 50	90	5,21							15	30	7,64
17 30	130	5,75	17 30	30	7,17	16	360	6,24	Festgeformt, rot. Carmin +++		
24	120	5,90	Festgeformt, rot durch Carmin +++			19 20	220	5,44			
16. Versuchstag.											
7 50	350	5,31	8 30	100	7,27						
10 55	160	5,57	Festgeformt, rot und gelbbraun, Carmin ++								
14	100	5,90									
17	150	6,47									
23 10	130	5,67									
17. Versuchstag.											
			8	90	7,47						
			Festgeformt, braungelb								

Von allen Stühlen wurde ein aliquoter Teil Trockenkot aufbewahrt!

Literatur.

Leonor *Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin, Springer, 1922. — *W. J. Clark*, The Determination of Hydrogen Ions-Concentration. Baltimore 1920. — *Adolf Schmidt* und *J. Strassburger*, Die Fäzes des Menschen. Berlin, Hirschwald, 1915. — *Gustav Schaudt*, Die Wasserstoffionenkonzentration der menschlichen Fäzes. Zürich 1924. — *W. H. Veil*, Klin. Wochenschrift, 1. Jahrg. Berlin und München, 1922. — *W. Arnoldi* und *A. Benatt*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. Berlin 1923.

Die Wasserstoffionenkonzentration der menschlichen Fäzes.

Von

Gustav Schaudt.

(Aus der medizinischen Universitäts-Poliklinik Zürich.)

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Mit 12 Abbildungen im Text.

Die ersten Angaben über die Wasserstoffionenkonzentration der Fäzes veröffentlichten die Amerikaner *Howe* und *Hawk* im Jahre 1912.

Sie fanden durchwegs alkalische Werte von 0,15 — 9,8 . 10^{-8}, dies entspricht nach der von *Sörensen* eingeführten Ausdrucksweise, welche die Wasserstoffionenkonzentration durch ihren negativen Logarithmus als p_H bezeichnet, einem Werte von p_H 7,0 bis 8,82. Bei veränderter Lebensweise wurden diese Zahlen nicht überschritten; Schwankungen traten nur in diesem Bereiche auf. In den folgenden Jahren untersuchten die Pädiater *Ylppö*, *Eitel*, *Freudenberg* und *Heller* die p_H des Säuglingsstuhles. Die normale Reaktion des Brustmilchstuhles fand *Eitel* bei p_H = 4,0 bis 6,0. Bei Hunger und Opstipation traten alkalische Werte auf. Kuhmilchstühle hatten eine p_H von 7,8 bis 8,2. *Eitel* glaubt, daß die Fäzesreaktion von *wasserlöslichen Salzen* (primären und sekundären Phosphaten) wesentlich mitbestimmt werde; den *flüchtigen Fettsäuren* mißt er für die Reaktion keine Bedeutung bei. Jene wasserlöslichen Salze seien es, welche im Darm resorbiert werden können (Opstipation, Hunger) und dann eine alkalische Reaktion hinterließen. *Robinson*, der zuletzt die p_H der Fäzes untersuchte, glaubt, daß die saure Reaktion derselben durch mangelhafte Neutralisierung des Darminhaltes in den oberen Darmabschnitten zustande käme. Die normale fäkale Reaktion beträgt nach ihm bei gemischter Ernährung p_H = 7,0 bis 7,5 und zeigt nur geringe Schwankungen. Diarrhöe wird von saurer, Verstopfung von alkalischer Reaktion begleitet. Als saure Werte notierte *Robinson* eine p_H von 6,5 bis 7,0, als alkalische solche von p_H = 7,5 bis 7,9. Als Wirkung der verschiedenen Abführmittel fand er eine Säuerung der Fäzes.

Die erwähnten Untersuchungen wurden mit der *elektrometrischen* Methode gemacht. Unsere Untersuchung führten wir aus äußeren Gründen nach der *Indikatorenmethode* durch.

Technik.

Als Indikatoren dienten die von *Clark* und *Lubs* angegebene Reihe: Methylrot, Bromkresolpurpur, Bromthymolblau, Phenolrot, Thymolblau, als Pufferlösungen die Borat-, Salzsäure-, Citrat-, Natronlauge- und Phosphatmischung nach *Sörensen*. Die Resultate wurden im *Walpoole*-Komparator abgelesen.

Es wurde von der zu untersuchenden Stuhlportion ein etwa 1 g schweres Stück genommen, gewogen, hierauf mit der 20fachen Gewichtsmenge physiologischer Kochsalzlösung zusammen in einem Mörser verrieben, bis das Gemisch homogen aussah. Dieses wurde zentrifugiert und aus der über dem Sediment stehenden Flüssigkeit folgende Verdünnungen hergestellt.

	I	II	III	IV	V
Resultierende Verdünnung	5/1000	4/1000	3/1000	2/1000	1/1000
1/20 verdünnte Stuhlaufschwemmung in ccm	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2
Physiologische Kochsalzlösung in ccm	9,0	9,2	9,4	9,6	9,8

Mit diesen Verdünnungen wurden je zwei Reagenzröhrchen gefüllt, das eine davon nach dem üblichen Vorgehen der Indikatorenmethode mit der gewählten Indikatorlösung versetzt und mit dem anderen zusammen im Walpoole-Komparator mit den Testpufferlösungen verglichen. Da die Verdünnung 5/1000 sehr oft nicht abgelesen werden konnte, weil sie zu undurchsichtig war, wurden in der ganzen Arbeit nur die bei der Verdünnung 4/1000 abgelesenen p_H-Werte berücksichtigt. Zwischen den Verdünnungen von 4/1000 bis 1/1000 ergab sich eine durchschnittliche Differenz der abgelesenen p_H von 0,23. Dieses Verhalten zeigt beispielsweise nachstehende Tabelle.

	Stuhl	Verdünnungen				Maximale Differenz
		4/1000	3/1000	2/1000	1/1000	
		p_H	p_H	p_H	p_H	p_H
1.	*A.Z.* 4. VI. 9h	7,38	7,16	7,11	6,98	0,40
2.	*A.Z.* 4. VI. 3	7,47	7,21	7,21	7,21	0,26
3.	*A.Z.* 4. VI. 12	5,98	6,16	6,16	6,16	0,18
4.	*A.Z.* 6. VI. 5	7,18	7,11	7,11	7,08	0,10
5.	*A.Z.* 7. VI. 9	8,20	8,20	8,20	8,14	0,06
6.	*A.Z.* 16. VI. 9	6,10	6,10	6,10	6,24	0,14
7.	*A.Z.* 16. VI. 11	6,00	6,00	6,10	6,29	0,29
8.	*A.Z.* 16. VI. 3	6,10	6,29	6,29	6,41	0,31
9.	*M.M.* 11. VI. 8	7,17	7,07	7,07	—	0,10
10.	*M.M.* 11. VI. 10	6,35	6,24	6,24	—	0,11

Es können gegen die Anwendung vorstehender Methode zur Fäzesuntersuchung folgende Einwände gemacht werden:

1. Wird durch so starke Verdünnung die p_H nicht bedeutend verändert?

2. Wie wird das Resultat der Untersuchung durch den Salz- und Eiweißfehler beeinflußt?

Zu 1.: Auch die elektrometrische Methode arbeitet mit einer minimalen Verdünnung von 1/5. Die relativ geringen p_H-Unterschiede bei den verschiedenen Verdünnungen deuten darauf hin, daß in den

Fäzes, wie es schon von anderen Körperflüssigkeiten (Urin, Blut) bekannt ist, Puffersubstanzen enthalten sind. Der normale Kot enthält nach *Grundzach* 12,4 bis 12,6 Proz. Aschebestandteile. Von diesen entfallen 13,8 Proz. auf Phosphate. Sie machen neben den p_H-indifferenten Neutralsalzen die überwiegende Menge der wasserlöslichen Salze aus. Wie *Joly*, *Soxhlet*, *Maly* und vor allem *Henderson* zeigten, sind gerade primäre und sekundäre Phosphate ausgesprochene Puffersubstanzen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese auch die Pufferung der Fäzes übernehmen. Genaue Angaben über den Gehalt des Stuhles an diesen Salzen ließen sich in der Literatur nicht auffinden. Nach den Untersuchungen von *Michaelis* und *Krüger* wird die p_H von Pufferlösungen bei Verdünnung nur wenig geändert, wie folgende Tabelle dieser Autoren zeigt: Ein Gemisch von gleichen Mengen m/15 primärer Kaliumphosphat- und m/15 sekundärer Natriumphosphatlösung ergibt

unverdünnt		eine	p_H	von	6,813	
1/2	verdünnt	„	p_H	„	6,904	
1/5	„	„	p_H	„	6,990	
1/20	„	„	p_H	„	7,069	
1/50	„	„	p_H	„	7,088	
1/∞	„	„	p_H	„	7,10	(extrapoliert)

Der Unterschied in der p_H zwischen der unverdünnten und 1/5 verdünnten Lösung beträgt 0,177, zwischen der Verdünnung 1/5 und 1/∞ 0,11. Die p_H verändert sich also bei Pufferlösungen am meisten bei kleinen Verdünnungen, bei großen Verdünnungen nur wenig mehr.

Da es uns darauf ankam, Vergleichswerte der Fäzes-p_H zu gewinnen und nicht absolute Werte, genügte uns diese, durch starke Verdünnung geringen p_H-Veränderungen unterworfene Methode.

Zu 2.: Der Salzfehler ist bei unserer Untersuchung ebenso wie der Eiweißfehler vernachlässigbar klein. Denn, wenn die gesamte Kotasche der normalen Fäzes 13 Proz. beträgt, so kann bei einer Verdünnung von 4/1000 der Salzgehalt derselben höchstens 0,52 Prom. erreichen. In Wirklichkeit ist dieser Wert zu hoch, da nur der kleinste Teil der Kotasche aus wasserlöslichen Salzen besteht. Die Verdünnungsflüssigkeit, 9 prom. Kochsalzlösung, muß bei der Diskussion des Salzfehlers berücksichtigt werden. *Kolthoff* gibt bei einer n/2 NaCl-Lösung für Thymolblau einen Salzfehler von —0,17, für Methylrot von +0,10, für Phenolrot von —0,15, für Bromkresolpurpur von —0,25 an. Eine n/2 NaCl-Lösung entspricht einem Salzgehalt von 27,23 Prom. Der Salzfehler unserer physiologischen Kochsalzlösung beträgt also weniger als maximal 0,1 und kann deshalb bei dieser Untersuchung außer acht gelassen werden.

Zur Kontrolle unserer Methode wurden zwei Stühle gleichzeitig mit unseren Indikatoren in der *Schweiz. Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt in Oerlikon*[1]) elektrometrisch mit folgendem Resultat untersucht:

Verdünnug	p_H unserer Untersuchung	p_H-Werte der Kontrolluntersuchung elektrometrisch
	I. Stuhl *A. Z. S.*	
4/1000	6,77	7,07
3/1000	6,64	—
2/1000	6,81	6,96
1/1000	6,64	—
	II. Stuhl *F. M.*	
4/1000	7,03	7,91
3/1000	6,81	—
2/1000	6,73	—
1/1000	6,73	—

Endlich war zu entscheiden, ob bei gewöhnlicher Kost die verschiedenen Abschnitte einer geformten Stuhlportion dieselbe p_H hatten. Zu diesem Zwecke wurden mehrfach verschiedene Partien eines Stuhles mit folgendem Resultat untersucht:

Stuhl	I p_H	II p_H	III p_H	IV p_H	Maximale Differenz p_H
A. Z. 17/8 in 4 Abschnitten	7,28	7,28	6,89	7,07	0,39
A. Z. 13/8 „ 2 „	6,72	6,60			0,12
A. Z. 19/6 „ 2 „	6,47	6,55			0,08
A. Z. 14/8 „ 2 „	7,69	7,38			0,31
A. Z. 20/12 „ 2 „	7,60	7,43			0,17
A. Z. 22/9 „ 2 „	8,20	7,83			0,37
B. U. 20/7 „ 2 „	7,55	7,17			0,38

Die maximale p_H-Differenz innerhalb ein und derselben Stuhlportion beträgt 0,39, die durchschnittliche 0,26. Die Größe liegt nahe der von *Sörensen* angegebenen Fehlerbreite der Indikatorenmethode von $\pm$ 0,1.

Die in Tabelle II aufgeführten p_H-Werte des *Urins* wurden folgendermaßen gewonnen:

Es wurden zwei Reagenzröhrchen mit je 5 ccm Harn gefüllt und mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung auf die Hälfte verdünnt. Das eine von diesen versetzte man mit der gewählten Indikatorlösung und brachte beide, zusammen mit der Testpufferlösung in den Walpoole-Komparator und las die p_H ab.

[1]) Bei dieser elektrometrischen Untersuchung wurde konstant Wasserstoffgas durch die Stuhlaufschwemmung geleitet und so das in der Fäzes stets vorhandene Kohlendioxyd ausgetrieben. Daraus erklärt sich der alkalischere Wert der elektrometrischen Methode, und aus dem verschiedenen Gehalt der beiden Stühle an Kohlendioxyd die ungleich großen Differenzen zwischen der elektrometrischen und kolorimetrischen Methode.

Tabelle I.



Die Fäzes-p_H unter verschiedenen Bedingungen.

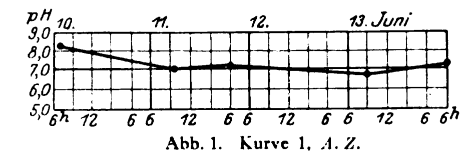


Abb. 1. Kurve 1, *A. Z.*

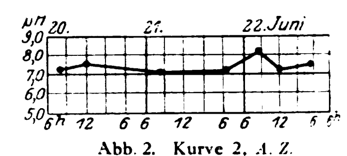


Abb. 2. Kurve 2, *A. Z.*

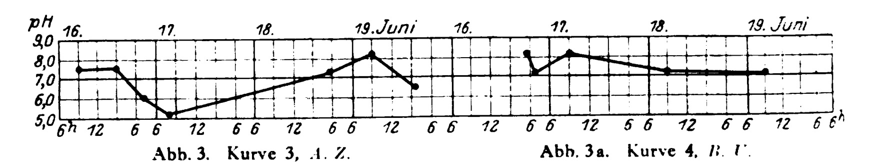


Abb. 3. Kurve 3, *A. Z.*

Abb. 3a. Kurve 4, *B. V.*

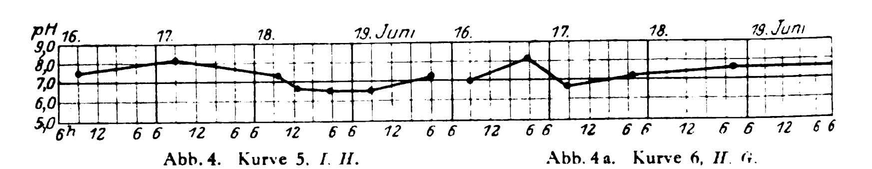


Abb. 4. Kurve 5. *I. H.*

Abb. 4a. Kurve 6, *H. G.*

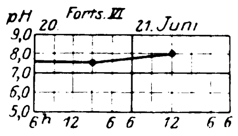




Abb. 4b. Kurve 6 Forts., *H. G.*

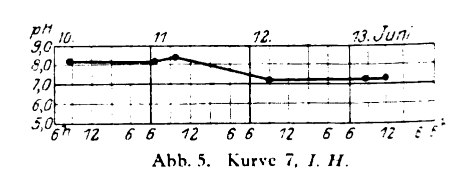


Abb. 5. Kurve 7, *I. H.*

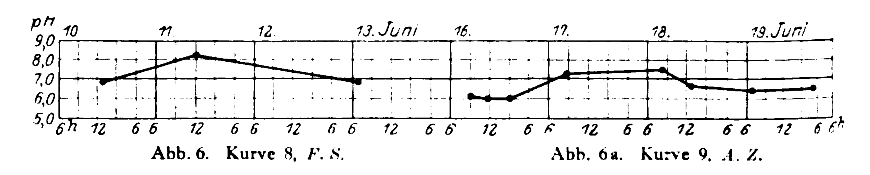


Abb. 6. Kurve 8, *F. S.*

Abb. 6a. Kurve 9, *A. Z.*

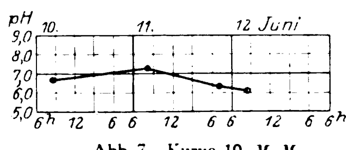


Abb. 7. Kurve 10, *M. M.*

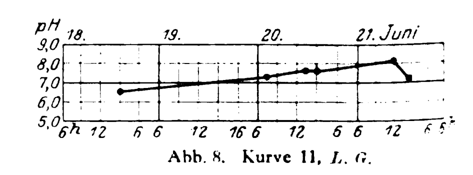


Abb. 8. Kurve 11, *L. G.*

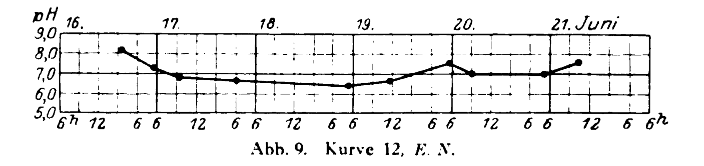


Abb. 9. Kurve 12, *E. N.*

Kurve 1. *A. Z.* Die Fäzes-p_H bei fettreicher Nahrung, vorwiegend alkalische Werte.

„ 2. *A. Z.* Die Fäzes-p_H bei eiweißreicher Nahrung, vorwiegend alkalische Werte.

„ 3. *A. Z.* Die Fäzes-p_H bei kohlehydratreicher Nahrung, tiefste p_H von 5,98 und 5,16 nach Rharbarberkompott.

„ 4. *B. U.* Die Fäzes-p_H bei lactovegetabiler Kost. Am 17. und 18. Juni Natr. bic. 20,0 per os; kein Effekt.

„ 5. *I. H.* Die Fäzes-p_H bei lactovegetabiler Kost. Am 18. Juni 10,0 n/1 NaH_2PO_4 mit Carmin per os. Nach 4 Stunden Stuhl von p_H 6,85 ohne Carmin, nach 8 und 24 Stunden Stühle von p_H 6,60 und 6,76 mit Carmin.

„ 6. *H. G.* Die Fäzes-p_H bei gemischter Kost. Am 17. Juni Stuhlsäuerung durch Karlsbader Salz.

„ 7. *J. H.* Die Fäzes-p_H am 11. und 12. Juni nach 20,0 Natr. bic. per os ohne sicheren Effekt.

„ 8. *F. S.* Die Fäzes-p_H bei gemischter Kost. Am 11. und 12. Juni 20,0 Natr. bic. ohne sicheren Effekt.

„ 9. *A. Z.* Die Fäzes-p_H bei gemischter Kost. Am 18. Juni 10,0 n/1 NaH_2PO_4 per os, mit Carmin, nach 4 Stunden ein Stuhl von p_H 6,41 ohne Carmin, nach 23 und 25 Stunden Stühle von p_H 6,47 und 6,55 mit Carmin.

„ 10. *M. M.* Die Fäzes-p_H bei gemischter Kost. Unter Citronenpreßsaft Stuhlsäuerung bis p_H 6,41 und 6,55.

„ 11. *L. G.* Die Fäzes-p_H bei gemischter Kost. Am 19. Juni 20,0 n/1 NaH_2PO_4 intravenös, am 21. Juni 40,0 $NaHCO_3$, intravenös, beides ohne Effekt.

„ 12. *E. N.* Die Fäzes-p_H bei gemischter Kost und täglicher Gabe von Karlsbader Salz leichte Säuerung der Fäzes.

Versuchspersonen waren:

1. *A. Z.*, 25 Jahre, männlich, gesund	
2. *B. U.*, 35 Jahre, weiblich, Polycythaemia vera	
3. *H. G.*, 64 Jahre, männlich, Myodegeneratio cordis	
4. *J. H.*, 50 Jahre, männlich, Nephrosclerosis	*zurzeit keine Krankheiten des Verdauungstractus*
5. *F. S.*, 70 Jahre, männlich, Diabetes mellitus	
6. *M. M.*, 51 Jahre, weiblich, gesund	
7. *L. G.*, 59 Jahre, weiblich, Lebertumor	
8. *E. N.*, 52 Jahre, weiblich, Cholelithiasis (anfallsfrei)	

Das Resultat der in Reihen von 3 bis 6 Tagen durchgeführten Untersuchung wurde in Tageskurven dargestellt, auf deren Abszisse die Zeit, auf deren Ordinate die p_H aufgetragen sind. Die den Kurven entsprechende Kost wurde in der Reihenfolge der Kurventabelle am Schlusse zusammengestellt.

Resultat der Untersuchung.

Kurve 1, *A. Z.*, zeigt die *Schwankung der Fäzes-p_H bei fettreicher Nahrung.* Der Anfangswert am 10. Juni von $p_H = 8{,}20$ kann nicht der Fettkost zugeschrieben werden. Die folgenden Zahlen bewegen sich sehr nahe an der Neutralitätslinie, nämlich um p_H 7,0 herum; es sind folgende p_H-Werte: 6,98, 7,17, 6,72, 7,32. Trotzdem am 12. Juni kein Stuhl abgesetzt wird, ist der darauffolgende Wert nicht alkalisch, wie zu erwarten wäre, sondern sauer.

Nach dieser Kurve zu schließen, entspricht fettreicher Kost eine Fäzes-p_H, die sich nur wenig vom Neutralpunkt entfernt. Die Farbe der Entleerungen war vorwiegend graubraun, die Konsistenz dickbreiig bis fest.

In Kurve 2, *A. Z.*, sind die *p_H-Werte bei eiweißreicher Nahrung* aufgezeichnet. Sie sind durchwegs alkalisch: p_H 7,43, 7,60, 7,17, 7,27, 8,20, 7,17, 7,55. Makroskopisch waren alle Stuhlportionen geformt, zum Teil fest, zum Teil schafkotartig.

Bei *kohlehydratreicher Nahrung* stellte sich eine technische Schwierigkeit ein. Der reinen Kohlehydratkost mußten Fett, Fruchtsäfte oder Kompotte zugegeben werden, welche das Resultat der Fäzes-p_H wesentlich beeinflußten. Man sieht in Kurve 3, *A. Z.*, wie nach alkalischen Anfangswerten auf Genuß von Rhabarberkompott hin zwei stark saure Entleerungen mit einer p_H von 5,98 und 5,16 erfolgen. Dieselben sind dünnbreiig, gelb, mit Rhabarberbastfäden untermischt. Es ist doch wohl die Wirkung der Pflanzensäuren (Oxalsäure), welche hier diese Fäzessäuerung verursacht. Cellulose allein hat bloß vermöge ihrer mechanischen, peristaltikanregenden Wirkung und infolge ihrer etwaigen Gärung keinen so stark säurenden Einfluß auf den Darminhalt. Als Wirkung der Kohlehydrate kann der Wert vom 18. Juni aufgefaßt werden: $p_H = 7{,}18$. Der Wert von $p_H = 8{,}20$ am 19. Juni

ist wohl der Wirkung der am 6. Juni genossenen Milch in Form von Milchreis zuzuschreiben (Fettseifenstuhl, geformt, dunkelgraubraun).

Lactovegetabile Ernährung ruft, wie Kurve 4, *B. U.*, vom 16. und 17. Juni, und Kurve 5, *J. H.*, vom 16. und 17. Juni zeigen, nur alkalische p_H-Werte hervor: 8,15, 7,17, 8,15 und 7,46, 8,14 (Fettseifenstühle). Die Fäzes sind pastenartig bis fest, dunkelbraun bis grüngelb.

Auch die *gemischte Ernährung* bewirkt nur alkalische Fäzesreaktion. In Kurve 6, *H G*, vom 18 bis 21 Juni treten folgende Werte auf: p_H = 7,66, 7,55, 8,04.

Weiter wurde untersucht, *ob die Stuhlreaktion wesentlich durch Aufnahme von Alkalien per os beeinflußt werden kann.* Zu diesem Zwecke wurden der Versuchsperson morgens nüchtern 20 g Natriumbicarbonat verabreicht. In Kurve 7, *J. H.*, haben wir offenbar ohne Natriumbicarbonatwirkung stark alkalische p_H-Werte von 8,17, 8,18, 8,43, die übrigen p_H-Werte können unter Mitwirkung desselben entstanden sein. Sie liegen nahe der Neutralitätslinie: 7,10, 7,27, 7,27. Ebensolche Werte treten aber auch bei gemischter Nahrung spontan auf. Alle Entleerungen waren geformt, fest, braungelb bis braunrot. Kurve 8, *F. S.*, zeigt am 10. Juni eine schwach saure Entleerung von p_H 6,98, am 11. Juni, 5 Stunden nach der Natriumbicarbonatgabe, eine solche von p_H = 8,12; am 12. Juni Stuhlpause, am 13. Juni einen Stuhl von p_H = 6,98. In Kurve 4 *B. U.* treten nach $NaHCO_3$-Werte von p_H 7,38 und 7,17 auf. Da bei gemischter Kost, wie oben angeführt, ohnehin schon alkalische p_H-Werte auftreten, kann dem Natriumbicarbonat keine sichere alkalisierende Wirkung zugeschrieben werden.

Welchen Effekt hat die Verabreichung von Säure per os auf die Fäzes-p_H? Zur Untersuchung dieser Frage wurden der Versuchsperson morgens 9 Uhr 10 g primären Natriumphosphats, gelöst in Syrup. rub. Idaei, gegeben und zur Stuhlabgrenzung eine Stärkekapsel mit Carmin verabreicht.

In Kurve 5, *J. H.* besteht vor dem Versuch am 17. Juni ein alkalischer Wert von p_H 8,14, 1 Stunde nach Einnahme des sauren Phosphats ein solcher von p_H 7,38. Nach 4, 8 und 24 Stunden erfolgte je eine saure Entleerung von p_H 6,85, 6,60, 6,76. Diese Stühle sind dünnflüssig; *nur die letzten zwei enthalten Carmin*, der erste enthält keine Spur davon. Ähnlich ist die Reaktion auf die Phosphatgabe in Kurve 9, *A. Z.*, am 18. und 19. Juni. 1 Stunde vor Einnahme des Phosphats erfolgt ein alkalischer Stuhl von p_H 7,60, 4 Stunden danach eine carminfreie Entleerung, diese ist dünnbreiig, graubraun, hat eine p_H von 6,41. Am 19. Juni wird ein dünnbreiiger Stuhl von p_H 6,47 mit Carmin und ein geformter ebenfalls carminhaltiger von p_H 6,55 entleert. Auffallend ist, daß *nach beiden Phosphatgaben die erste saure Entleerung carminfrei ist*, trotzdem die Carminkapsel gleichzeitig mit

dem Phosphat gegeben wurde. Es hat den Anschein, als ob eine Stuhlportion *analwärts* von der, der Phosphatgabe entsprechenden gesäuert wurde unter Einfluß dieser Phosphatgabe. Dies könnte *direkt* durch Diffusion der Säure in analwärts gelegene Darmabschnitte oder auf dem Umwege über die Darmwand durch *Resorption* des Phosphats im oralen und *Ausscheidung* desselben in mehr anal gelegenen Darmabschnitten erfolgen. Der *Darmwand* käme dabei eine *aktive Rolle* bei der Ausscheidung der Säure zu. Endlich könnte es sich um mangelhafte Alkalisierung des vorhandenen Darminhalts infolge der durch die Säurewirkung allgemein beschleunigten Peristaltik und verringerten Verweildauer handeln. Die nähere Untersuchung dieser Fragen ist im Gange. Unter dem Einfluß von Pflanzensäuren sehen wir in den Kurven 10, *M. M.*, vom 10. bis 12. Juni, und 3, *A. Z.*, vom 4. und 5. Juni ähnliche p_H-Schwankungen. In Kurve 10 tritt bei gemischter Kost nach Genuß von *Citronenpreßsaft* eine Fäzes-p_H von 6,35 und 6,05 auf. Hierher gehören auch die stark sauren Entleerungen in Kurve 3 nach Genuß von *Rhabarberkompott*. Alle diese auf Säurezufuhr hin entstandenen Entleerungen sind, ausgenommen diejenigen nach Citronenpreßsaft, dünnflüssig.

Es erhebt sich nun die Frage, *ob bei intravenöser Injektion von primärem Natriumphosphat und Natriumbicarbonat* die Fäzes-p_H verändert wird.

Es wurden der Versuchsperson in Kurve 11, *L. G.*, am 19. Juni 20 ccm einer Normallösung von primärem Natriumphosphat (46,02 g zu Aqua dest. 1000) in die Cubitalvene injiziert und gleichzeitig eine Carminkapsel per os gegeben.

Während am 18. Juni die Fäzes-p_H 6,60 beträgt, geht sie am 20. Juni trotz mehrfacher Entleerungen auf 7,12 und 7,66. Es kann der Phosphatinjektion höchstens eine peristaltikanregende, nicht aber eine p_H-verändernde Wirkung zugeschrieben werden.

Am 21. Juni wurden derselben Person 40 ccm einer normalen Natriumbicarbonatlösung (42 g zu Aqua dest. 1000) intravenös injiziert. Die Fäzes-p_H beträgt 2 Stunden nach der Injektion $p_H = 8,1$, 5 Stunden danach $p_H = 7,21$. Ob diese Alkaliwerte dem Natriumbicarbonat zu verdanken sind, ist fraglich, zumal als solche p_H-Schwankungen auch bei eiweißreicher Nahrung auftraten.

Es bleibt noch übrig, den *Einfluß von Karlsbader Salz auf die Fäzes-p_H* zu untersuchen. *Robinson* behauptet, daß alle Abführmittel einen säuernden Einfluß auf die Fäzes hätten. Kurve 6, *H. G.*, zeigt am 16. Juni, 2 Stunden nach Einnahme des Laxans, eine neutrale, dickbreiige, am 17. Juni nach einer Stunde eine saure Entleerung von p_H 6,76, dünnbreiig. In den Intervallen ist die fäkale p_H 8,20 und 7,27.

Andauernde Wirkung des Karlsbader Salzes zeigt Kurve 12, *E. N.* Am 17. Juni wurden zwei Stühle von p_H 6,98 und 6,72, am 18. Juni einer von p_H 6,55, am 19. Juni ein solcher von p_H 6,71 abgesetzt; nur der erste und letzte von diesen war dünnbreiig. Nach einem kurzen Anstieg in den alkalischen Bereich mit einer p_H von 7,6 am 19. Juni finden am 20. Juni zwei neutrale, dünnflüssige Entleerungen statt.

Als dritter Fall von typischer Karlsbader Salz-Wirkung ist Kurve 9, *A. Z.*, vom 16. und 17. Juni anzusehen. Nach Einnahme von einem Eßlöffel Karlsbader Salz erfolgen innerhalb 8 Stunden drei dünne, braungraue Entleerungen von p_H 6,10, 6,0, 6,10, die nachfolgenden Stühle sind alkalisch.

Säurewerte, welche durch das Karlsbader Salz hervorgerufen werden, sind nicht hochgradig, unterschreiten p_H 6,0 nicht.

Bei Versuchsperson *A. Z.* wurde an 11 Tagen neben der Stuhl-p_H fortlaufend auch die Urin-p_H untersucht. In Tabelle II sind die Kurven 1, 2 und 9, *A. Z.*, wiederholt und die Urin-p_H analog den Stuhl-p_H-Kurven eingetragen.

Sörensen gibt nach den elektrometrischen Messungen von verschiedenen Autoren eine mittlere Urin-p_H von 6 bis 5,3 an. *E. v. Skramlik* fand die Urinwasserstoffionenkonzentration bei Kohlehydratkost bei $1,29 - 1,46 \cdot 10^{-6}$ (= p_H 5,89 bis 5,83), bei Milchkost eine solche von $0,88 - 1,37 \cdot 10^{-6}$ (= p_H 6,05 bis 5,86), bei Fleischkost ist sie $4,22 - 5,40 \cdot 10^{-6}$ (= p_H 5,37 bis 5,26).

Hasselmann gibt die Harnacidität bei Kartoffelkost mit p_H 7,0, bei Haferkost (sein sauerster Wert) mit p_H 5,5, bei Fleischnahrung mit p_H 6 bis 7 (die alkalischsten Werte) an. Er erklärt die relative Alkalinität bei letzterer erstens durch vermehrte Abgabe von H-Ionen bei der gesteigerten Salzsäuresekretion des Magens und der daraus entstehenden kompensatorischen OH-Ionenausscheidung im Urin. Zweitens schreibt er der Fleischnahrung eine spezifisch-dynamische Wirkung auf dem Umwege über die endokrinen Drüsen und das vegetative Nervensystem zu, dadurch soll die Urinreaktion irgendwie nach der alkalischen Seite hin beeinflußt werden. Drittens hätten die durch die Fleischnahrung vermehrten Harnkolloide einen alkalisierenden Einfluß auf den Urin. *Heisler* fand endlich eine Schwankungsbreite der Harn-p_H von 7,5 bis 5,3. Durch perorale Zufuhr von Natriumbicarbonat konnte er die Urin-p_H innerhalb $1/2$ bis 1 Stunde auf 8,0 bis 8,5 bringen, dagegen waren Salzsäuregaben erfolglos. Verabreichung von Ammoniumchlorid verursachte eine Verschiebung der p_H-Kurve nach der sauren Seite hin bis p_H 4,8 bis 5,0.

Überblickt man unsere Kurven in Tabelle II, so sieht man, wie in allen Literaturangaben, daß die Urin-p_H sich vorwiegend im sauren

Tabelle 11.

Fäzes- und Urin-p_H bei fettreicher Nahrung:

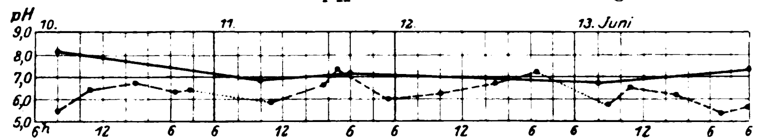


Abb. 10. Kurve 1, *A. Z.* Kurve mit ausgezogenem Strich bedeutet Fäzes-p_H, gestrichelte Linie = Urin-p_H, punktierte Linie = Zeit, in der Urin nicht untersucht wurde.

Die Urin-p_H beträgt am:

10. Juni	8 Uhr	11 Uhr	3 Uhr	8 Uhr	11 Uhr
p_H	5,52	6,49	6,81	6,49	6,55
11. Juni	11 Uhr	$3^1/_2$ Uhr	5 Uhr	5 Uhr	
p_H	5,94	6,72	7,38	6,00	
12. Juni	10 Uhr	3 Uhr	7 Uhr		
p_H	6,24	6,89	7,17		
13. Juni	9 Uhr	11 Uhr	3 Uhr	9 Uhr	6 Uhr
p_H	5,86	6,60	6,24	5,47	7,74

Die Fäzes- und Urin-p_H bei eiweißreicher Kost:

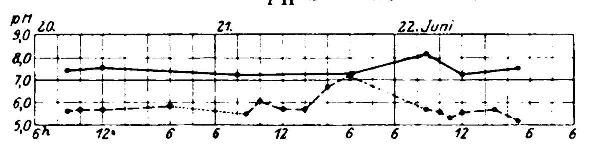


Abb. 11. Kurve 2, *A. Z.* Es treten vorwiegend saure Urin-p_H-Werte zwischen 5,11 und 6,11 auf

Die Urin-p_H beträgt am:

20. Juni	9 Uhr	10 Uhr	12 Uhr	6 Uhr		
p_H	5,71	5,81	5,85	6,06		
21. Juni	9 Uhr	10 Uhr	12 Uhr	2 Uhr	4 Uhr	6 Uhr
p_H	5,57	6,11	5,85	5,85	6,81	7,12
22. Juni	9 Uhr	10 Uhr	11 Uhr	12 Uhr	3 Uhr	5 Uhr
p_H	5,75	5,65	5,31	5,65	5,73	5,11

Fäzes- und Urin-p_H nach Karlsbader Salz und Natr. phosphat.

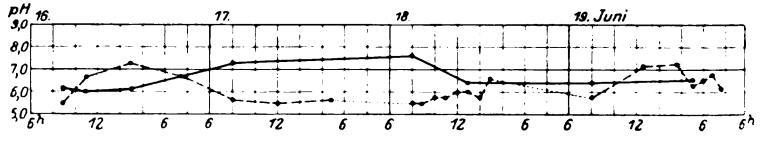


Abb. 12. Kurve 9, *A. Z.* Kein sicherer Effekt auf die Urin-p_H.

Die Urin-p_H beträgt am:

16. Juni	9 Uhr	11 Uhr	3 Uhr	8 Uhr	11 Uhr			
p_H	5,47	6,76	7,27	6,76	6,76			
17. Juni	8 Uhr	12 Uhr	5 Uhr					
p_H	5,62	5,50	5,57					
18. Juni	8 Uhr	9 Uhr	10 Uhr	11 Uhr	12 Uhr	1 Uhr	2 Uhr	3 Uhr
p_H	5,52	5,52	5,71	5,81	6,08	6,02	5,70	6,60
19. Juni	8 Uhr	$12^1/_2$ Uhr	$3^1/_2$ Uhr	5 Uhr	6 Uhr	8 Uhr	11 Uhr	
p_H	5,73	7,02	7,17	6,36	6,55	6,97	6,24.	

Bereich bewegt. Unter verschiedenen Bedingungen treten alkalische Werte von 7,12 bis 7,38 auf. Als sauersten Wert erkennt man eine p_H von 5,11.

In Kurve 1, *A. Z.*, treten bei fettreicher Kost an allen 4 Tagen im Morgenurin, ausgenommen am 13. Juni, die sauersten Werte auf (p_H 5,52, 5,94, 6,24, 5,86). Im Laufe des Tages zeigt die Kurve jedesmal einen Gipfel. Derselbe ist am 10. Juni um 3 Uhr bei p_H 6,81, am 11. Juni um 5 Uhr bei p_H 7,38, am 12. Juni um 7 Uhr bei 7,17. Es sind dies wohl die dem Maximum der Magensalzsäuresekretion entsprechenden Höhen der kompensatorischen O H-Ionenausscheidung, besonders hervorgerufen durch die Fleischnahrung, wie *Hasselmann* zuletzt ausgeführt. Am 13. Juni finden wir die Kurvenhöhe vor der Mittagsmahlzeit, auf Omelett und Kirschenkompott hin sinkt die Urin-p_H. An allen 4 Tagen bleibt die Kurve vorwiegend zwischen p_H 6 und 7.

Kurve 2, *A. Z.*, zeigt, und ihr ist auch aus der Kurve 9, *A. Z.*, der 19. Juni zuzurechnen, die *Urin- und Stuhl-p_H bei eiweißreicher Kost.* Die p_H-Kurve des Urins verläuft am 19. Juni ganz wie *Hasselmann* für Fleischkost beschreibt, zwischen p_H 6 und 7, zeigt sogar zwei alkalische Werte p_H 7,02 und 7,17. Nicht mit den Angaben dieses Autors, wohl aber mit denen von *v. Skramlik*, stimmen die p_H-Kurven des Urins vom 20., 21. und 22. Juni überein. Sie bewegen sich vorwiegend zwischen p_H 5 und 6; es findet sich nur ein Anstieg darin, nämlich am 21. Juni um 6 Uhr tritt eine p_H von 7,12 auf.

Es zeigen diese Kurven, daß bei Fleischnahrung sowohl vorwiegend saure p_H-Werte zwischen 5,0 und 6,0, als auch relativ alkalische von p_H 6 bis 7,17 auftreten können.

In den Kurven 1 und 2, *A. Z.*, ist eine sichere Beziehung zwischen Urin- und Fäzes-p_H nicht feststellbar, dagegen könnte man beim Überblick der Kurve 9, *A. Z.*, an eine solche denken.

Diese zeigt am 16. und 17. Juni die *Wasserstoffionenkonzentration von Fäzes und Urin nach Einnahme von Karlsbader Salz.* Am 16. Juni ist der p_H-Wert des Morgenurins 5,47, er steigt bis 3 Uhr auf p_H 7,27, um hernach allmählich bis zum 17. Juni morgens auf $p_H = 5{,}62$ abzufallen, und bleibt dann auf dieser Höhe. Die Fäzes-p_H dagegen wird nach einem Anfangswert von p_H 6,10 von der Urin-p_H-Kurve erstmals gekreuzt, sinkt wenig auf p_H 6,0, steigt wieder auf p_H 6,10, wird von der absteigenden Urinkurve wieder gekreuzt, währenddem sie auf p_H 7,28 am 17. Juni ansteigt. Man könnte nun leicht glauben, daß ein direkter Zusammenhang zwischen dem Anstieg der Urin-p_H einerseits und der Senkung der Fäzes-p_H andererseits, wie auch in umgekehrter Weise bestehe. Eine ähnliche Kurve der Urin-p_H wie am 16. Juni sehen wir am 10. Juni in Kurve 1, *A. Z.*, unter ganz anderen Bedingungen, d. h. ohne Karlsbader Salz. Ebenso gleicht auch die

Kurve vom 17. Juni derjenigen vom 20. Juni in Kurve 2, *A. Z.*, welche der Fleischnahrung entspricht. Auch hier ist die Abhängigkeit der Urin-p_H von derjenigen der Fäzes unsicher.

Am 18. und 19. Juni sehen wir den Verlauf der Fäzes- und Urin-p_H nach Phosphatgabe. Die Fäzes-p_H-Kurve wurde oben beschrieben. Die Urin-p_H steigt am 18. Juni von einem Werte von p_H 5,52 im Morgenharn treppenförmig bis 3 Uhr auf p_H 6,60 an, ähnliche Anstiege zeigt auch Kurve 1, *A. Z.* Daß die Urin-p_H-Kurve vom 19. Juni nicht der unter Phosphatgabe vom 18. Juni entstandenen Fäzes-p_H-Kurve entspricht, sondern dem Einfluß von Fleischnahrung zu verdanken ist, ist leicht ersichtlich.

Zusammenfassung.

In den vorstehenden Kurven wurde die p_H von 75 Stühlen eingetragen. Ihre Grenzwerte waren p_H 8,43 und 5,16.

14 Stühle hatten eine p_H über 8,0, alle waren fest.

36 Stühle hatten eine p_H von 7,0 bis 8,0, 30 davon waren fest, 6 breiig.

23 Stühle hatten eine p_H von 6,0 bis 7,0, 12 davon waren fest. 11 flüssig.

2 Stühle hatten eine p_H von unter 6,0 und waren flüssig.

Die p_H sämtlicher flüssiger Stühle beträgt maximal 7,38 und 5,6 minimal, ihr Durchschnittswert ist 6,6. Die p_H der festen Stühle hielt sich in den Grenzen von 8,43 und 6,05 und hatte einen Durchschnittswert von 7,43. Alle Stühle von der Beschaffenheit, wie sie bei Obstipation auftreten, waren alkalisch. Es kann somit die Angabe von *Robinson*, daß dünne Stühle sauer, Obstipationsstühle alkalisch reagieren, im ganzen bestätigt werden.

Wie *Robinson* fanden wir, daß Karlsbader Salz die Fäzes säuert, jedoch nicht hochgradig. Die Fäzes-p_H schwankt dabei zwischen 6,0 und 7,0.

Orale Zufuhr von 10 g primärem Natriumphosphat rief durchwegs saure Stühle mit einer p_H von 6,41 bis 6,85 hervor, dabei ist bemerkenswert, daß je ein Stuhl vor der der Phosphatgabe entsprechenden Stuhlportion gesäuert war. Nach intravenöser Injektion von Natriumphosphat und von Natriumbicarbonat trat keine sichere Veränderung der Stuhl-p_H auf. Auch orale Zufuhr von Natrium bic. hatte keinen deutlichen Effekt auf die Stuhl-p_H. Nach Einnahme von Rhabarberkompott und Citronenpreßsaft traten saure Stühle von p_H 5,16 bis 6,72 auf.

Die Fäzes-p_H ist bei gemischter, eiweißreicher und lacto-vegetabiler Nahrung alkalisch, bei fettreicher Kost nahezu neutral.

Zusammenstellung der den vorstehenden Kurven entsprechenden Kost.

Kurve 1. *A. Z.*

	10. VI.	11. VI.	12. VI.	13. VI.
7 h	Butterbrot, Kaffee	Butterbrot, Kaffee	Butterbrot, Kaffee	Butterbrot, Kaffee
12	Kartoffelsalat, Wurst, Kaffee	Speck, Bohnen, Bratkartoffeln	Adrio, Bratkartoffeln, Hafersuppe	Omelette, Kirschen
8	Käse, Butter, Brot	Butterbrot, Kaffee	Polenta, Kaffee	Kaffee, Brot, Kirschenkompott
Stuhl:	8 h p_H 8,20, graubraun, geformt	10 h p_H 6,98, braungrau, geformt, 6 h p_H 7,17, braungrau, geformt	keinen	9 h p_H 6,72, fest, braungelb, 6 h p_H 7,32, geformt, graubraun

Kurve 2. *A. Z.*

	20. VI.	21. VI.	22. VI.
7 h	Kaffee, Hackbraten	Kaffee, Eier	Kaffee, Brot
12	Bratwurst, Brot, Nudeln,	Rindfleisch, Bohnen, Nudeln	Kalbfleisch, Kartoffeln, Gerstensuppe, Salat
8	Hackpraten, Kaffee	Wurst, Brot, Kaffee	Pfannkuchen, Kaffee
Stuhl:	8 h p_H 7,43, fest mit Carmin, 12 h p_H 7,6, fest mit Carmin	8 h p_H 7,17, geformt, graubraun, 7 h p_H 7,27, geformt, gelbbraun	9 h p_H 8,20, geformt, dunkelbraun, 12 h p_H 7,17, schafkotartig, dunkelbraun, 5 h p_H 7,55, geformt, grünlichbraun

Kurve 3. *A. Z.*

	16. VI.	17. VI.	18. VI.	19. VI.
7 h	Kaffee, Brot	Thee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot
12	Griespudding, Rhabarberkompott	Brotsuppe, Nudeln, Kirschenkompott	Milchreis, Apfelkompott, Brotsuppe	Nudelsuppe, Rindfleisch, Spinat, Kartoffeln
8	Pudding, Fruchtsaft	Nudeln, Kirschenkompott	Milchreis, Apfelkompott	
Stuhl:	9 h p_H 7,38, geformt, dunkelbraun, 3 h p_H 7,47, geformt, dunkelbraun, 12 h p_H 5,98, gelb, breiig mit Rhabarberbastfäden	8 h p_H 5,16 gelb, breiig mit Rhabarberbastfäden	5 h p_H 7,18, braun, geformt	9 h p_H 8,20, braun, geformt, 4 h p_H 6,64, geformt, dunkelbraun

Zusammenstellung der den vorstehenden Kurven entsprechenden Kost. (Fortsetzung.)

Kurve 4. *B. U.*

	16. VI.	17. VI.	18. VI.	19. VI.
7 h	Milch, Brot	20,0 ccm $NaHCO_3$, Milch, Brot	20,0 ccm $NaHCO_3$, Milch, Brot	Milch, Brot
9	Milch	Milch, Brot	Milch, Brot	Milch, Brot
12	Suppe, Spinat, Kartoffeln	Suppe, Reis, Apfelschnitz	Suppe, Bohnen, Äpfel	Suppe, Salat, Äpfel
3	Milch, Brot	Milch, Brot,	Milch, Brot	Milch, Brot
6	Suppe, Milch	Suppe, Milch	Suppe, Milch	Suppe, Milch
Stuhl:	5 h 75 g p_H 8,15, dunkelbraune Paste, 8 h 75 g p_H 7,17, geformt, grüngelb	9 h 190 gr p_H 8,15, geformt, grüngelb	9 h 205 g p_H 7,38, dickbreiig, braungrau	9 h 200 g p_H 7,17, dickbreiig, graubraun

Kurve 5. *J. H.*

	16. VI.	17. VI.	18. VI.	19. VI.
7 h	Milch, Brot	Milch, Brot		Milch, Brot,
9	Milch	Milch	Milch, Brot, Ei, 1 Carminkapsel, 10,0 ccm NaH_2PO_4	Milch
12	Suppe, Kartoffeln, Äpfel	Suppe, Spinat, Bohnen	Suppe, Kartoffeln, Salat	Suppe, Nudeln, Spinat
3	Milch, Brot	Milch, Brot	Milch, Brot	Milch, Brot
6	Suppe, Milch	Suppe, Milch	Suppe, Milch	Suppe
Stuhl:	9 h 200 g p_H 7,46, fest, geformt, braunrot	250 g p_H 8,14, fest, geformt, braunrot	10 h 120 g p_H 7,38, geformt, grüngelb, 1 h 265 g p_H 6,85, dünnflüssig, braungelb, 5 h 40 g p_H 6,60, dünnflüssig + Carmin	9 h 170 g p_H 6,76, dünnbreiig + Carmin, 6 h 60 g p_H 7,17, dünnbreiig + Carmin

Zusammenstellung der den vorstehenden Kurven entsprechenden Kost. (Fortsetzung.)

Kurve 6. *H. G.*

	16. VI.	17. VI.	18. VI.
	Karlsbader Salz	Karlsbader Salz	
7h	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot
9	Kaffee	Kaffee	Kaffee
12	Suppe, Milker, Kartoffeln, Kohl	Suppe, Kalbfleisch, Spinat, Nudeln	Suppe, Ei, Hirn, Kartoffeln, Äpfel
3	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee Brot
6	Suppe, Kaffee	Suppe, Ei, Kaffee	Suppe, Kaffee
Stuhl:	9h 125 g p_H 7,07, braunrot, dickbreiig, 5h 70 g p_H 8,20, dunkelbraun, geformt, fest	8h 125 g p_H 6,76, dünnbreiig, braungelb, 9h 65 g p_H 7,27, pastenartig, graubraun	3h 180 g p_H 7,66, dickbreiig, geformt, graubraun

	19. VI.	20. VI.	21. VI.
7h	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot
9	Kaffee	Kaffee	Milch
10		Kirschen	
12	Suppe, Ei, Bratwurst, Nudeln, Spinat	Suppe, Ei, Kalbfleisch, Kohl, Reis	Suppe, Ei, Milken, Bohnen, Kartoffeln, Apfelschnitz
3	Kaffee, Brot	Milch, Brot	Kaffee, Brot
6	Suppe, Ei, Milch	Suppe, Ei, Milch	Suppe, Kaffee
Stuhl:	keinen	3h 160 g p_H 7,55, fest, graubraun	12h 160 g p_H 8,04, fest, trocken, graugelb

Kurve 7. *J. H.*

	10. VI.	11. VI.	12. VI.	13. VI.
7h	Milch, Brot	20,0 Natr. bic., Milch, Brot	20,0 Natr. bic., Milch	Kaffee
9	Milch	Milch	Milch	
12	Suppe, Fleisch, Karotten, Kartoffeln		Suppe, Reis, Fleisch, Salat	
3	Milch, Brot		Milch, Brot	Kaffee
6	Milch, Brot		Milch, Suppe	
Stuhl:	8h 160 g p_H 8,17, braun, fest	7h 15 g p_H 8,18, schafkotartig, rotbraun, 10h 65 g p_H 8,43, fest, dunkelbraun	9h 15 g p_H 7,10, geißenstuhlartig, braunrot	8h p_H 7,27, fest, braungelb, 12h p_H 7,27, geformt, braungelb

Zusammenstellung der den vorstehenden Kurven entsprechenden Kost. (Fortsetzung.)

Kurve 8. *F. S.*

	10. VI.	11. VI.	12. VI.	13. VI.
7h	Kaffee, Brot, Butter, Käse	20,0 Natr. bic., Kaffee Käse, Brot, Butter	20,0 Natr. bic., Kaffee, Käse, Brot, Butter	Kaffee, Käse, Butter, Brot,
9	Wein, Schinken, Ei	Wein, Spiegeleier	Wein, Spiegeleier	Schinken, Ei, Wein,
12	Suppe, Ei, Beefsteak, Spinat, Kartoffeln	Fleischbrühe, Fleisch, Kartoffeln, Salat	Suppe, Ei, Fleisch, Bohnen, Kohlrabi, Salat	Suppe, Ei, Fisch, Kohlrabi, Wein
3	Kaffee, Käse, Butter, Brot	Kaffee, Käse, Rahm, Brot, Butter	Kaffee, Käse, Butter, Brot	Kaffee, Käse, Butter, Brot,
6	Kaffee, Spinat, Bouillon, Ei	Fleischbrühe, Rühreier, Brot, Kaffee, Salat	Salat, Spiegeleier, Bouillon, Wein	Spinat, Spiegeleier, Fleischbrühe, Wein
Stuhl:	1h 175 g p_H 6,98, fest, graubraun	12h 185 g p_H 8,12, fest, graubraun	keinen	8h 200 g p_H 6,98, fest, braungelb

Kurve 9. *A. Z.*

	16. VI.	17. VI.	18. VI.	19. VI.
7h	Karlsbader Salz	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot
8	Kaffee, Brot			
9			10,0 ccm NaH_2PO_4 + 1 Carminkapsel	
12	Suppe, Rindfleisch, Nudeln, Käse	Omelett, Kirschenkompott	Beefsteak, Kartoffeln, Bohnen, Hafersuppe	Adrio, Kartoffeln
8	Spiegeleier, Brot, Kaffee	Kaffee, Butterbrot	Kaffee, Butterbrot, Fleischkäse	Hackbraten, Kaffee
Stuhl:	9h p_H 6,10, 11 p_H 6,00, 3 p_H 6,10 } dünnbreiig, graubraun	8h p_H 7,28, geformt, graubraun	8h p_H 7,6, geformt, graubraun, 1h p_H 6,41, dünnbreiig, graubraun	8h p_H 6,47, dünnbreiig + Carmin, 5h p_H 6,55, geformt, braunrot, pastonartig + Carmin

Kurve 10. *M. M.*

	10. VI.	11. VI.	12. VI.
7h	Kaffe, Brot, Butter	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot
12	Wurst, Kartoffelsalat, Brot, Citronenwasser	Speck, Bohnen, Bratkartoffeln, Citronenwasser	Adrio, Bratkartoffeln, Hafersuppe, Citronenwasser
7	Käse, Brot, Kaffee	Kaffee, Butterbrot	Kaffee, Butterbrot
Stuhl:	8h p_H 6,72, geformt, braungelb	8h p_H 7,17, 10 p_H 6,35 } fest, graubraun	8h p_H 6,05, fest, graubraun

Kurve 11. *L. G.*

	18. VI.	19. VI.	20. VI.	21. VI.
7h	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee	Kaffee, Käse, Rahm, Butter
8		Intravenöse Injektion 20,0 ccm n/1 NaH_2PO_4 + 1 Carminkapsel		Injektion 40,0 ccm n/1 Natr.-bic.-Lösung 1 Carminkapsel
9	Kaffee	Kaffee		Speck, Eier
12	Suppe, Schweinefl., Kartoffeln, Äpfel	Suppe, Schweinefleisch, Kartoffeln, Äpfel	Fleischbrühe, Ei, Fisch, Kohl	Bouillon, Eier, Speck, Bohnen
3	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee, Käse, Rahm, Brot, Butter	Kaffee, Rahm, Brot, Butter
7	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot		Suppe, Ei, Fleisch, Spinat
Stuhl:	3h 60 g p_H 6,60, geformt, graubrau	keinen	7h 70 g p_H 7,12, 1h 70 g p_H 7,66, 3h 60 g p_H 7,66, } geformt, + Carmin	11h 120 g p_H 8,10, geformt, + Carmin 2h 80 g p_H 7,21, geformt, + Carmin

Kurve 12. *E. N.*

	16. VI.	17. VI.	18. VI.
6½h	Karlsbader Salz	Karlsbader Salz	Karlsbader Salz
7	Kaffee, Milch, Brot	Kaffee, Milch, Brot	Kaffee, Brot
9	Kaffee, Milch	Kaffee, Milch	Kaffee
12	Schleimsuppe, Knöpfle, Äpfel	Schleimsuppe, Ei, Kalbfleisch, Nudeln	Schleim, Ei, Kalbfl., Kart., Kohl, Äpfel
3	Kaffee, Milch, Brot	Kaffee, Milch, Brot,	Kaffee, Brot
7	Suppe, Ei, Kaffee	Suppe, Ei, Kaffee	Schleimsuppe, Ei, Kaffee
Stuhl:	3h 60 g p_H 8,20, schafkotartig, dunkelbraun, 5h 50 g p_H 7,47, geformt, graubraun	9h 130 g p_H 6,98, dünnbreiig, graubraun, 6h 70 g p_H 6,72, dickbreiig, schwarzbraun	4h 70 g p_H 6,55, geformt, graubraun

	19. VI.	20. VI.	21. VI.
6½h	Karlsbader Salz	Karlsbader Salz	
7	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot
9	Kaffee	Kaffee	Kaffee
12	Schleimsuppe, Ei, Rindfleisch, Kartoffeln, Spinat	Schleimsuppe, Ei, Spinat, Kartoffeln, Rindfleisch, Äpfel	Schleimsuppe, Ei, Rindfleisch, Kartoffeln, Kraut
3	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot	Kaffee, Brot
7	Schleimsuppe	Suppe, Ei, Kaffee	Schleimsuppe, Ei
Stuhl:	11h 120 g p_H 6,71, dünnflüssig, dunkelgraubraun, 5h 110 g p_H 7,60, geformt, dunkelgraubraun	9h 120 g p_H 7,07, dünnflüssig, dunkelbraun, 5h 90 g p_H 7,07, dünnbreiig, dunkelbraun	10h 200 g, p_H 7,73, geformt, graubraun

An 11 Versuchstagen mit gemischter Kost wurde neben der Stuhl-p_H auch diejenige des Urins untersucht. Eine sichere Abhängigkeit zwischen den beiden p_H-Reihen konnte nicht festgestellt werden. Die Urin-p_H schwankte zwischen p_H 7,38 und 5,11.

Fettreicher Kost entspricht eine Urin-p_H zwischen 6,0 und 7,0, bei eiweißreicher Nahrung fanden wir sowohl p_H-Werte von 6,0 bis 7,0, wie sie *Hasselmann* für Fleischkost angibt, als auch solche von p_H 5,0 bis 6,0, wie sie von *Skramlik* beschrieben wurden.

Literatur.

Paul Howe and *P. B. Hawk*, Journ. of biol. Chem. **11**, 1912. — *Arvo Ylppö*, Neugeborenen-, Hunger- und Intoxikationsacidosis. Berlin, Springer, 1916. — *Hans Eitel*, Zeitschr. f. Kinderheilk. **16**, 1917. — *Freudenberg* und *Heller*, Jahrb. f. Kinderheilk. **44**, 1921. — *C. S. Robinson*, Journ. of biol. Chem. **52**, 1922. — *S. P. L. Sörensen*, Ergebn. d. Physiol., Jahrg. **12**, 1912. — *Leonor Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin, Springer, 1914 und 1922. — *W. J. Clark*, The Determination of Hydrogen Ions. Baltimore 1920. — *Adolf Schmidt* und *J. Strasburger*, Die Fäzes des Menschen. Berlin, Hirschwald, 1915. — *L. J. Henderson*, Ergebn. d. Physiol., Jahrg. 8. 1909. — *Karl Heisler*, Zeitschr. f. exper. Med. **34**, 411, 1923. — *Max Hasselmann*, Klin. Wochenschr. 1923, S. 122. — *E. von Skramlik*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **71**, 290, 1911.

Beitrag zur Kenntnis des Placentahormons.

Vorläufige Mitteilung.

Von

E. Glimm und **F. Wadehn.**

(Aus dem chemischen Institut der Technischen Hochschule zu Danzig.)

(Eingegangen am 30. September 1925.)

Zondek und *Aschheim* (1) erwähnen kürzlich in einer vorläufigen Mitteilung, daß es ihnen zusammen mit *Brahn* gelungen ist, das Sexualhormon des Ovars und der Placenta nach einem nicht näher angegebenen Verfahren in *wasserlöslicher* Form darzustellen. Da wir uns mit Versuchen auf dem gleichen Gebiet befassen, möchten wir kurz über einen Weg berichten, der uns zu demselben Resultat geführt hat. Auch nach unseren Versuchen ist es in der Tat wahrscheinlich, daß das Sexualhormon nicht das neutrale Lipoid ist, für das es bisher gehalten wurde.

Wir gingen bei unseren Versuchen von dem sirupösen Extrakt aus, den man erhält, wenn man getrocknetes Placentapulver nach dem Verfahren von *Fränkel* und *Herrmann* (2) aufarbeitet. *Fränkel* und *Herrmann* reinigten diesen bereits stark wirksamen Extrakt durch mehrfache fraktionierte Destillation im hohen Vakuum bei Temperaturen um 200°. Sie erhielten dabei ein einheitliches chemisch definierbares Öl, das sie als *das weibliche Sexualhormon* ansprachen. Auffallend ist aber die spätere Angabe *Fränkels* (3), daß das so durch Destillation gewonnene Öl weniger wirksam sei als der ursprüngliche Sirup. Es ist jedenfalls nicht unwahrscheinlich, daß das Hormon trotz seines sonst relativ stabilen Charakters derartige Temperaturen nicht ohne Schädigung ertragen kann.

Der nach dem *Fränkel-Herrmann*schen Verfahren gewonnene Extrakt ist noch ein vielgestaltig zusammengesetztes Produkt, das in allen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln löslich ist. Durch wechselseitige Beeinflussung werden selbst diejenigen Stoffe in Lösung gehalten, die allein in dem einen oder anderen Lösungsmittel unlöslich sind. Es ist z. B. nicht möglich, das im Sirup vorhandene Cholesterin

durch Kristallisation auszuscheiden. Ein weiteres Reinigen des Sirups durch Umlösen aus organischen Lösungsmitteln ist daher sehr schwierig.

Unsere Reinigungsmethode beruht auf der Beobachtung, daß der Sirup in verdünnten Alkalien eine milchähnliche Emulsion liefert, und daß diese Emulsion mit Bleiessig als Bleiseife gefällt wird. Die einzelnen Bestandteile dieser Bleiseife zeichnen sich nun durch recht verschiedene Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln aus. Zwar haben auch sie die unangenehme Eigenschaft, sich wechselseitig stark in ihrer Löslichkeit zu beeinflussen; es ist aber durch vielfaches Wiederholen der einzelnen Operationen durchaus möglich, eine Trennung des Extraktes in verschiedene Komponenten herbeizuführen. Diese Bleiverbindungen — wenn wir die bleihaltigen Fällungen der ammoniakalischen Lösung mit Bleiessig als Verbindung bezeichnen dürfen — ergeben daher nach ihrer Umsetzung Substanzen, die bei ihrer Prüfung am Tiere sich als sehr verschieden wirksam erweisen. Die erneute Umwandlung der aktiven Fraktionen in Bleiverbindungen und wiederholtes fraktioniertes Ausziehen ergab hochwirksame Stoffe, die die Produkte, die *Herrmann* erhielt, an Wirksamkeit erheblich übertreffen.

Die besten auf diesem Wege gewonnenen Präparate sind — wie besonders betont sei — in verdünntem Alkali klar löslich.

Die Reinigung ist so weit fortgeschritten, daß 10 mg des besten Präparats genügen, um in 4 Tagen den zwirnsdünnen blassen Uterus des jungen weiblichen Kaninchens in einen tief roten geschwollenen Schlauch zu verwandeln.

Auch dieses beste Präparat ist noch nicht einheitlich. Es scheint aber der von uns eingeschlagene Weg geeignet, eine weitere Reinigung zu ermöglichen, um so das Placentahormon unverändert zu isolieren.

Eine ausführliche Mitteilung über diese Arbeiten wird demnächst in dieser Zeitschrift erfolgen.

Literatur.

1) *Zondek* und *Aschheim*, Klin. Wochenschr. 1925, S. 1388. — 2) *E. Herrmann*, Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäkologie **41**, 1915. — 3) *S. Fränkel* und *M. Honda*, diese Zeitschr. **141**, 379; *S. Fränkel*, Handb. d. biol. Arbeitsmethode, Abtl. 3, 2.

Untersuchungen über die Verdaulichkeit von Lichenin.

Von

Albert Wallerstein.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 30. September 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Das Lichenin („Flechtenstärke“, „Moosstärke“) ist in den Membranen von Cetraria islandica, Usnea barbata, Evernia vulpina, in kleiner Menge auch in höheren Pflanzen (Gras, Spinat usw.) enthalten; es läßt sich nach Abtrennung der Flechtensäuren durch kochendes Wasser entziehen. Die Totalhydrolyse liefert ausschließlich Traubenzucker. Lichenin ist in verdünnten Laugen löslich, es reduziert *Fehling*sche Lösung nicht stärker als Cellulose, d. h. nur spurenweise. Licheninlösung ist optisch inaktiv, sie wird durch Jod nicht gefärbt.

Nach den Untersuchungen von *P. Karrer* steht das Lichenin der gewöhnlichen Cellulose sehr nahe, und es ergibt sich hieraus Interesse für die Frage nach dem Verhalten des Lichenins im Verdauungskanal des Säugetieres. Insbesondere handelt es sich darum, festzustellen, ob vielleicht Lichenin dank seiner physikalischen Beschaffenheit in so großem Umfang aufgespalten wird, daß es als Nahrung mit der Stärke in Konkurrenz treten kann.

Von der Weinbergschnecke berichtet *P. Karrer*, daß ihre Verdauungsdrüsen ein Ferment bilden, welches Lichenin sehr energisch zu Glucose abbaut. Auch aus der Wurmart Lumbricus herculeus savigni konnte ein solches Enzym gewonnen werden, ferner aus Malz und verschiedenen keimenden Samen, aus Gras und a. O.

Untersuchungen, welche sich auf die Ausnutzbarkeit des Lichenins durch das Säugetier beziehen, wurden von *Tomihide Shimizu* angestellt. Dieser Autor stellt fest, daß Licheninzusatz zur Nahrung Eiweiß spart. Es kommt unter dem Einfluß der Licheninzugabe zu Fleisch zu einer Verringerung der Stickstoffausscheidung. *Shimizu* nimmt für die aus seinen Versuchen zu schließende Ausnutzung des Lichenins an, daß Bakterien die Spaltung besorgen, wobei als resorbierbare Endprodukte Fettsäuren entstünden.

In der Festschrift für *Olof Hammarsten* berichtet *E. Poulsson* über Versuche mit Lichenin, die an Menschen ausgeführt worden sind. Bei diesen Versuchen wurde ein „Flechtenbrot“ verwendet, worin sämtliche Kohlehydrate der Flechte enthalten waren. Es wurde in zwei Versuchen 49,25 und 46,22 Proz. der Gesamtmenge der Kohlehydrate resorbiert; wieviel von Lichenin selbst resorbiert wurde, ist aus diesen Versuchen nicht genau zu ersehen. Auch die Versuche von *T. Shimizu* geben über die quantitativen Verhältnisse, d. h. über den Grad der Ausnutzung von Lichenin keinen Aufschluß. Diese spezielle Frage soll gemäß einer von Herrn Prof. *Karrer* ausgegangenen Anregung der Gegenstand unserer eigenen Untersuchungen sein.

Versuchsanordnung.

Als Versuchstier wählten wir die weiße Maus. Wir gaben ihr vor einem Pflanzenfresser den Vorzug, weil wir einer umfangreichen bakteriellen Zersetzung des zu untersuchenden Produktes aus dem Wege gehen wollten. Daß durch die Bakterientätigkeit Lichenin in großem Ausmaß in resorbierbare Substanzen zersetzt wird, steht ja nach den durch Invitro-Versuche kontrollierten Beobachtungen von *Shimizu* fest.

Größere Tiere kommen für Untersuchungen weniger in Frage aus Gründen einer möglichst ökonomischen Verwertung reiner Licheninpräparate.

Die zum Versuch angesetzten Mäuse wurden vorher auf ihren Nahrungsbedarf untersucht. Es geschah dies in der Weise, daß ihnen Semmeln in abgewogener Menge verabreicht wurden, wobei wir die Tagesration sukzessive so weit reduzierten, daß sie dieselbe ohne Rest aufzehrten. Für den eigentlichen Versuch war die Ration noch etwas herabgesetzt, in der Absicht nämlich, die Bedingungen für eine möglichst vollkommene Ausnutzung zu schaffen.

Der eigentliche Versuch wurde durch eine viertägige Periode mit Semmelfütterung unter der erwähnten Beschränkung der Ration eröffnet. Die Tiere waren dabei in zwei Gruppen zu je acht Mäusen geteilt. Die eine dieser beiden Gruppen erhielt in einer direkt anschließenden zweiten viertägigen Periode Semmel mit Lichenin vermischt. Es folgte eine dritte viertägige Periode mit wieder reiner Semmelfütterung. Die andere Gruppe der Tiere blieb während der ganzen Versuchsdauer auf reiner Semmelnahrung. Alle Tiere wurden täglich auf ihr Gewicht kontrolliert. Ferner wurde täglich der Kot gesammelt und von den wenigen Resten verschleppter Nahrung gesondert. Diese Manipulationen haben wir uns dadurch erleichtert, daß wir die Gläser, in welchen die Mäuse gehalten waren, mit Flaumfedern belegt hatten. Diese hielten die Mäuse warm, ohne daß sie sich mit dem Kot oder den Nahrungsresten verklebten. Sie erwiesen sich

auch deshalb besonders geeignet, weil sie von den Mäusen nicht angegriffen wurden. Eine cellulosehaltige Unterlage hätte in dieser Richtung eine Fehlerquelle bedingen können. Der gesammelte Kot wurde nach dem Trocknen im Exsikkator auf das Trockengewicht kontrolliert, hernach hydrolysiert und auf Zuckergehalt titriert. Aus der Gegenüberstellung des Kohlehydrats der verzehrten Nahrung und des Kohlehydratgehaltes des Kotes ergibt sich die Ausnutzung. Die entsprechenden Resultate finden sich in der Tabelle zusammengestellt.

Betreffend die Durchführung der referierten Versuche sind noch folgende ergänzende Bemerkungen zu machen. Dem Hauptversuch waren mehrfache Vorversuche vorgeschaltet worden, in welchen wir uns über den besten Fütterungsmodus orientierten. Anfangs hatten wir eine Hungerperiode vorausgeschickt, um, wie wir glaubten, eine bessere Abgrenzung der verschiedenen Fütterungsperioden zu erlangen. Es gingen dabei aber einzelne Tiere zugrunde, so daß jene Serien störende Lücken enthalten. Es wurden auch verschieden starke Licheninzusätze ausprobiert, nämlich solche von $^1/_3$ Lichenin zu $^2/_3$ Semmel und von $^2/_3$ Lichenin zu $^1/_3$ Semmel. Dabei ergab sich, daß $^2/_3$ Lichenin zu Verdauungsstörungen führen, die sich in breiigem Kot äußern. Für die Beurteilung der Ausnutzbarkeit des Lichenins glaubten wir solchen Störungen ausweichen zu müssen.

Die Licheninverabreichung erfolgte in Form von kleinen Kügelchen, welche aus dem Lichenin zusammen mit dem Weichen der Semmel geknetet wurden. Das Lichenin war, als wir es von Herrn Prof. *Karrer* in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt erhielten, feinfaserig, mit unregelmäßiger Fasergröße. Wir haben die Fasern vor dem Mischen mit Semmel noch zerkleinert und im Mikroskop auf einem Zählnetz auf Länge und Breite gemessen. Es ergab sich für die Länge ein Durchschnittswert von 1,4 mm, für die Breite 0,3 mm. Zur Feststellung der Zusammensetzung der von mir verwendeten Semmeln wurden mehrere Analysen vorgenommen und, da die Werte etwas schwankten, das Mittel in Rechnung gesetzt. Es konnte dies natürlich nur unter Einführung eines gewissen Fehlers geschehen.

Das Verhalten der Tiere während der Untersuchung bot keine Besonderheiten. Sie nahmen das Futter anscheinend gern. Die Reste der Nahrung, die nicht verzehrt wurden, waren sehr gering, entsprechend der schmalen Bemessung der Futtermenge. Die Gewichte sämtlicher Tiere nahmen im Verlauf des Versuchs ab, und zwar im ganzen ziemlich stetig, durchschnittlich um 19 Proz. bei den Lichenintieren und 17 Proz. bei den Kontrolltieren. In der kurvenmäßigen Darstellung des Gewichtsverlaufs zeigt die Licheninperiode nichts Auffallendes gegenüber dem Kurvenverlauf außerhalb der Licheninperiode. Das Futter wurde

täglich in zwei Rationen verabfolgt und zugleich das Trinkwasser gewechselt.

Die Hydrolyse der Semmel und des Kotes erfolgte in 10 ccm 7proz. Salzsäure durch einstündiges Kochen im Wasserbade. Nach der Hydrolyse wurde filtriert, mit Natrium bicarbonicum bis zur kongosauren Reaktion neutralisiert und auf 100 ccm verdünnt. Zur Titration bedienten wir uns der Mikromethode von *Bang*, deren Resultat wir in Vergleichsversuchen durch die Methode nach *Bertrand* kontrollierten. Die Analyse des letzten Versuchs wurden nur nach „*Bertrand*“ ausgeführt.

Bei der Durchführung der Analysen erfreute ich mich der freundlichen Mithilfe von Herrn *H. Lier*, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen besten Dank ausspreche.

Resultate.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in der Tabelle I zusammengestellt. In den mit I bezeichneten Vertikalkolonnen sind die Daten, welche sich auf die Kontrolltiere beziehen, welche während der 12tägigen Versuchsperiode nur Semmel erhielten.

Tabelle I.

Reduzierende Substanzen im Futter und im Kot auf Maus und Tag berechnet.

Datum	Im Futter von Semmel		Im Futter von Lichenin		Im Kot		Resorbiert		Resorbiertes Lichenin (Minimalwert)		
	I mg	II mg	I	II mg	I mg	II mg	I mg	II mg	I	II mg	Proz.
29. V.	990	990	—	—	11,04	11,27	978,96	978,73	—	—	—
31. V.	990	990	—	—	10,87	11,07	979,13	978,93	—	—	—
2. VI.	990	**879**	—	225	6,66	**82,20**	983,34	**1021,80**	—	**142,80**	**64**
4. VI.	990	**879**	—	225	12,18	**105,09**	977,82	**998,91**	—	**119,91**	**53**
6. VI.	990	990	—	—	10,34	14,19	979,66	975,81	—	—	—
8. VI.	990	990	—	—	9,18	13,97	980,82	976,03	—	—	—

Es wurden pro Maus und Tag 2 g Semmel gefüttert. Semmel enthält nach unseren Analysen (durchschnittlich) 49 ½ Proz. aufschließbare Kohlehydrate. Die Analysen wurden jeden zweiten Tag ausgeführt.

Die mit II bezeichneten Kolonnen führen die entsprechenden Daten der eigentlichen Versuchstiere, die in der viertägigen Zwischenperiode einen Teil der Semmel durch Lichenin ersetzt erhielten. Die Zahlen, welche aus der Licheninperiode stammen, sind fett gedruckt.

Es ergibt sich, daß das Lichenin mindestens zu 64 Proz. bzw. 53 Proz. ausgenützt worden ist. Während der Licheninfütterung ist die Kotmenge erheblich vermehrt.

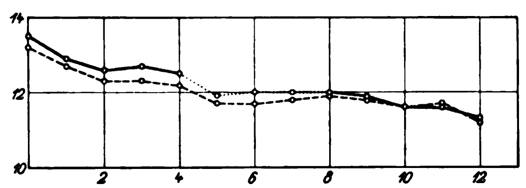


Abb. 1. Mittlerer Gewichtsverlauf der Mäuse während des Fütterungsversuches. Die Abszissenzahlen bedeuten Tage vom Beginn des Versuches, die Ordinatenzahlen bedeuten Gramme. ----- Kontrolltiere (Gruppe I). ——— Versuchstiere (Gruppe II). Der mit .... gezeichnete Teil der einen Kurve entspricht der Licheninperiode. Der relative Parallelismus in den Diskontinuitäten der Kurven ist vermutlich auf Witterungseinflüsse zu beziehen.



Abb. 2. Gewicht des Kotes.
Die Abszissenzahlen bedeuten Tage vom Beginn des Versuches, die Ordinatenzahlen bedeuten Zehntelgramme. ----- Kontrolltiere (Gruppe I). ——— Versuchstiere (Gruppe II). Der mit .... gezeichnete Teil der Kurve entspricht der Licheninperiode.

Literatur.

P. Karrer und *B. Joos*, diese Zeitschr. **136**, H. 4/6, 1923. — *Tomihide Shimizu*, ebendaselbst **117**, 245. — *Derselbe*, ebendaselbst **117**, 227. — *Derselbe*, ebendaselbst **117**, 241. — *Hans Pringsheim* und *Karl Seifert*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **128**, 1924. — *P. Karrer*, *B. Joos* und *M. Staub*, Helv. chim. acta **6**, 1923. — *E. Poulsson*, Festschrift für *Olof Hammarsten* zu seinem 65. Geburtstag. J. F. Bergmann, Wiesbaden 1906.

Über Phosphatstoffwechsel. II.

Von

Fritz Demuth.

(Aus der Universitätskinderklinik Marburg.)

(Eingegangen am 30. September 1925.)

Mit 13 Abbildungen im Text.

Hexosediphosphatasen in Knochen und Knorpel.

Robison und seine Mitarbeiter (1) untersuchten die fermentative Spaltung, die Knochen und Knorpel gesunder und rachitischer Hunde auf Hexosemonophosphat ausüben. Es ergab sich, daß der rachitische Knochen und der Knorpel, soweit er am Wachstum beteiligt ist, stärker spaltet als das gesunde Gewebe. Die Autoren fanden als Reaktionsoptimum p_H = 8,4 bis 9,4, eine Aciditätsstufe, die im lebenden Gewebe nicht vorkommt. Dieser Modellversuch läßt also keine Schlüsse auf die fermentativen Vorgänge im Organismus zu. Bei der Bedeutung, die den Phosphatestern bei der Rachitis vielleicht zukommen dürfte, untersuchten wir die Fermentwirkung von Knochen und Knorpel gesunder und rachitischer Säuglinge und Hunde auf einen anderen Ester, das Natriumhexosediphosphat.

Die Versuchsanordnung entspricht der in der ersten Mitteilung (2) wiedergegebenen. Die Knochen von Säuglingen konnten erst frühestens 12 Stunden nach dem Tode entnommen werden, woraus sich ein Teil der unten angeführten Unregelmäßigkeiten in den Befunden bei Säuglingen vielleicht erklärt. Auch ist es außerordentlich schwer zu bestimmen, wieweit die Rachitis unmittelbar vor dem Tode der Kinder noch als floride anzusehen war. Wir haben bei keinem Kinde noch während des Lebens eine P-Bestimmung des Blutserums machen können, da es sich um Fälle handelt, die kurz nach der Aufnahme in die Klinik starben. Andererseits lag uns aber gerade an diesen Fällen, da sie nur eine ganz kurze Erkrankung durchgemacht hatten (Intoxikationen und Pneumonie). Die Diagnose Rachitis wurde pathologisch-anatomisch gestellt.

Wegen dieser Unsicherheit haben wir noch drei Hunde eines Wurfes untersucht, von denen der eine dauernd im Freien herumlief und von der Mutter bis zum Alter von 3 Monaten gesäugt wurde, während die anderen beiden in einem engen, dunklen Zwinger gehalten wurden (der eine von der sechsten, der zweite von der zehnten Woche an) und vor allem in den letzten Wochen fettarm ernährt wurden. Alle Tiere wurden im Alter von 4 Monaten getötet. Die Dunkeltiere zeigten starken Rosenkranz und Epiphysenauftreibungen, unsicheren Gang, struppiges Haar, scheues Wesen im Freien. Die pathologisch-anatomische Diagnose wurde von Dr. *Arndt* im pathologischen Institut zu Marburg gestellt und lautete auf beginnende Rachitis. Der anorganische Serum-P-Spiegel betrug bei dem gesunden Tiere 8,8 mg-Proz., bei den Dunkel-

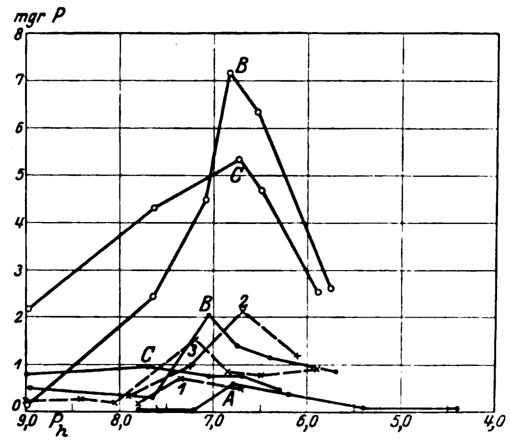


Abb. 1. Hexosediphosphatspaltung durch Knorpel von rachitischen und nicht-rachitischen Säuglingen.
1, 2, 3. X---X gesund (an der Knochengrenze)
A, B, C. ●——● rachitisch (oberflächlich),
B, C. ○——○ rachitisch (an der Knochengrenze).

tieren 5,3 und 6,0 mg-Proz. Das Serum der Tiere spaltete Hexosediphosphat viermal so stark wie Serum von Säuglingen. Das Optimum liegt etwa beim Neutralpunkt. Ein deutlicher Unterschied zwischen den Kurven des gesunden und der rachitischen Tiere ergab sich nicht. Das Serum von Hunden verhält sich also anders als das von Menschen.

Die Verarbeitung des unmittelbar nach der Tötung der Tiere durch Chloroform entnommenen Organe erfolgte in wenigen Stunden. Versuchsdauer 48 Stunden. Temperatur 40° C. Umrechnung auf 100 mg frischer Substanz. Angabe der aus 10 ccm 1 proz. Natriumhexosediphosphatlösung abgespaltenen Menge anorganischen P in Milligrammen.

Von den Skelettgeweben gesunder Säuglinge (Abb. 1 bis 3) spaltet Knorpel am wenigsten, stärker der Knochen des Femurschaftes, am

stärksten das Knochengewebe an der Knochen—Knorpelgrenze, also der Wachstumszone. Beim Knochen zeigen sich große individuelle Schwankungen, von denen wir annehmen, daß sie vielleicht zum Teil auf die Differenzen der Zeitpunkte der Knochenentnahme nach dem Tode zu beziehen sind. Dazu kommt, daß der Knochen an der Epiphysenlinie in bis zu einem gewissen Grade willkürlicher Schichtdicke abgetragen ist. Spaltet nun gerade die äußerste Zone besonders stark, so werden relativ dünne Knochenscheibchen mehr Umsätze ergeben als dickere Stückchen.

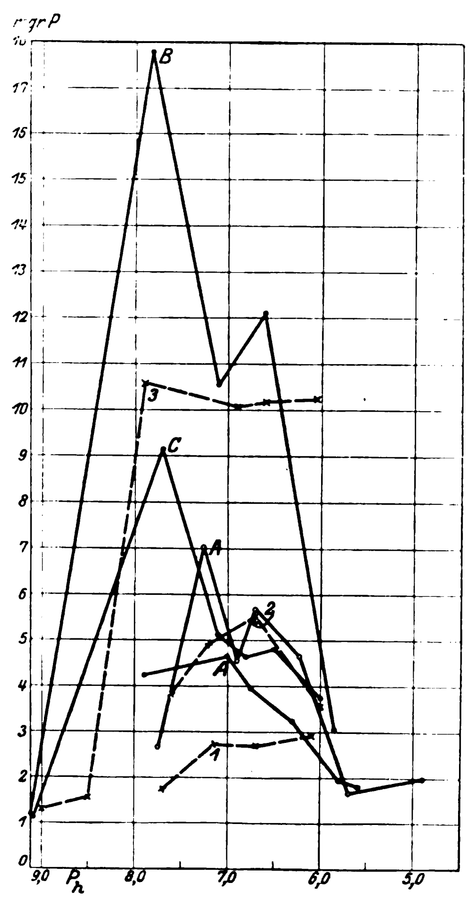


Abb. 2. Spaltung durch Knochen der Knochen—Knorpelgrenze von rachitischen und nicht-rachitischen Säuglingen.
1, 2, 3. ×---× gesund, Femur.
A, B, C. ●——● rachitisch, Femur.
A. ○——○ rachitisch, Rippe.

Das *h*-Optimum liegt für Knochen und Knorpel etwa in der Nähe des Neutralpunktes, nicht scharf bestimmbar, was dafür spricht, daß wir mit einer größeren Menge störender Begleitstoffe zu rechnen haben.

Beim Rachitiker ist der Knorpel der Wachstumszone von dem ruhenden Knorpel zu trennen. Während der letzte sich wie der Knorpel eines gesunden Säuglings von der Wachstumszone verhält, spaltet das Gewebe der präparatorischen Verkalkungszone, das sich ja durch seine größere Durchsichtigkeit deutlich von dem übrigen Knorpel abhebt und gut abpräparieren läßt, wesentlich stärker, nämlich etwa viermal so stark wie das gleiche Gewebe beim Gesunden. In diesem Punkte decken sich unsere Befunde mit denen *Robisons* betreffs der Monoverbindung. Als *h*-Optimum fanden wir aber $p_H = 6{,}9$. Auch im Bereich der Blut- und Gewebsreaktion ist die Spaltung gegenüber dem gesunden Knorpel noch stark erhöht.

Der Knochen des Rachitikers spaltet mindestens so stark wie der des Gesunden, ja — soweit die geringe Zahl der Versuche schon ein Urteil zuläßt — in der Regel stärker. Dabei ist das Optimum deutlich nach der alkalischen Seite verschoben, und zwar wieder in die Gegend von p_H 7,9, wie wir das schon beim Serum des Rachitikers gefunden haben. Fast alle Kurven zeigen noch eine zweite Erhebung, die das Optimum aber nicht erreicht. Sie liegt in der optimalen Zone des gesunden Knochens. Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich beim Rachitiker neben der Diphosphatase auch eine Monophosphatase bemerkbar macht, deren Optimum ja nach den Versuchen von *Robison* mehr nach der alkalischen Seite zu suchen ist.

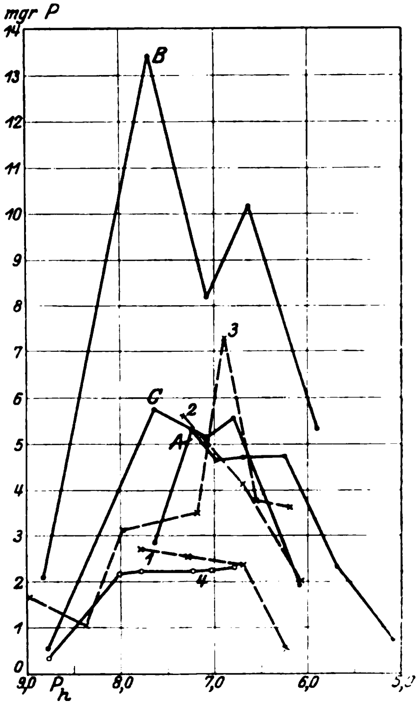


Abb. 3. Spaltung durch Diaphysenknochen von rachitischen und nicht-rachitischen Säuglingen.
1, 2, 3. ×- - -× gesund, Femur,
4. ●——● gesund, resezierte Rippe,
A, B, C. ○——○ rachitisch, Femur.

Die bei Säuglingen gemachten Befunde werden durch die Versuche beim Hunde bestätigt. Der Knorpel der Wucherungszone spaltet besser als der ruhende Knorpel (vom Femurkopf und von der Trachea), und wieder beim Rachitiker fast doppelt so stark wie beim Gesunden (Abb. 4 bis 6). Der Knochen des Rachitikers spaltet ebenfalls stärker, besonders an der Knochen—Knorpelgrenze. Wieder besteht ein doppeltes Optimum für das Gewebe der Wucherungszone bei 7,9 und bei 7,0, wobei die Höhe der beiden Optima wechselt (Abb. 7 bis 9).

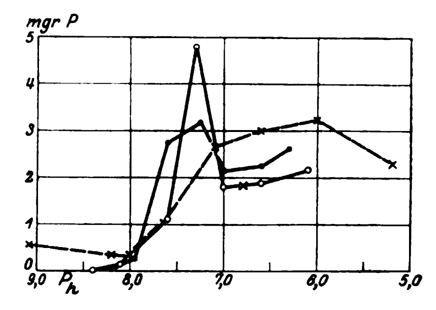


Abb. 4. Ruhender Knorpel von rachitischen und nicht-rachitischen Hunden.
×- - -× gesund, Femurkopf,
●——● } rachitisch, Rippe, 3 ccm von
○——○ } der Knochengrenze entfernt.

Gerade umgekehrt verhält sich das Knochenmark: Beim gesunden Hunde ist die Spaltung doppelt so groß wie bei den rachitischen Tieren

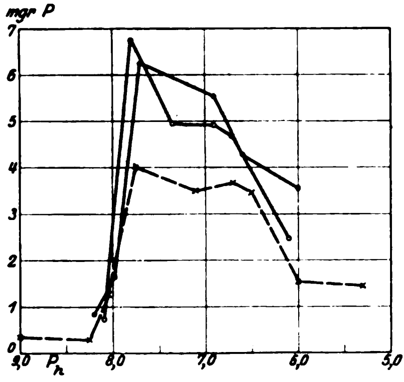


Abb. 5. Rippenknorpel der Wucherungszone von rachitischen und nicht-rachitischen Hunden.
×---× gesund, ●—● ○—○ } rachitisch.

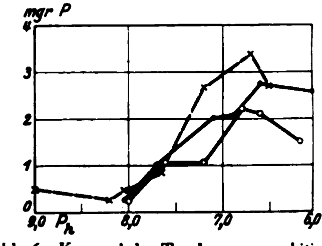


Abb. 6. Knorpel der Trachea von rachitischen und nicht-rachitischen Hunden.
×---× gesund, ●—● ○—○ } rachitisch.

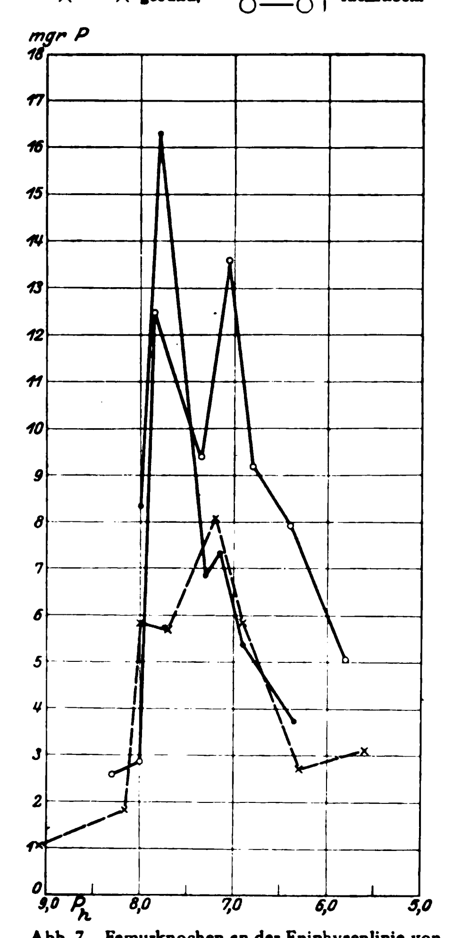


Abb. 7. Femurknochen an der Epiphysenlinie von rachitischen und nicht-rachitischen Hunden.
×---× gesund, ●—● ○—○ } rachitisch.

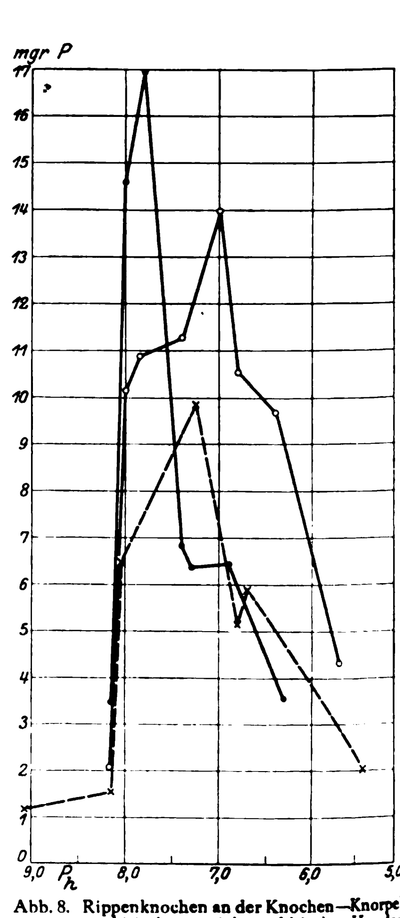
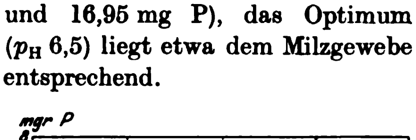


Abb. 8. Rippenknochen an der Knochen—Knorpelgrenze v. rachitischen u. nicht-rachitischen Hunden.
×---× gesund, ●—● ○—○ } rachitisch.

(Abb. 10). Bei Säuglingen fehlen uns die Kontrollen an gesunden Kindern. Das Mark zweier Rachitiker spaltete jedenfalls stark (17,25


und 16,95 mg P), das Optimum (p_H 6,5) liegt etwa dem Milzgewebe entsprechend.

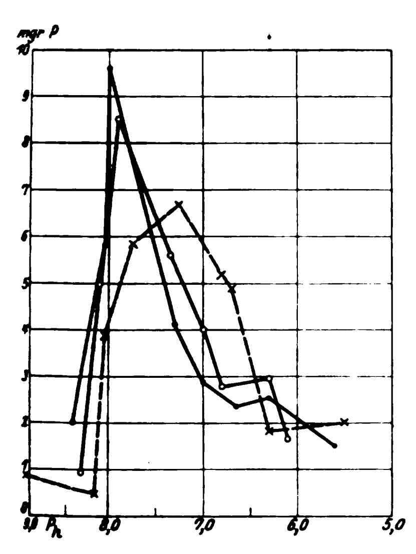


Abb. 9. Diaphysenknochen von rachitischen und nicht-rachitischen Hunden.
×---× gesund, ●—● ○—○ } rachitisch.

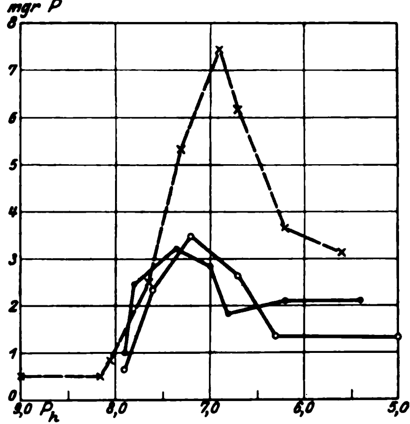


Abb. 10. Knochenmark von rachitischen und nicht-rachitischen Hunden.
×---× gesund, ●—● ○—○ } rachitisch.

Die vorstehenden Ergebnisse waren überraschend. Wenn man annimmt, daß bei der Verkalkung des Knochens durch fermentative Spaltung organischer P-Verbindungen, besonders Ester, des Blutes anorganisches Phosphat zur Verfügung gestellt wird, so mußte man bei Rachitis entsprechend der Verkalkungsstörung eine Verminderung der Fermenttätigkeit in Knorpel- und Knochengewebe erwarten. Unter der Voraussetzung, daß unser Modellversuch sich nicht allzusehr von den Verhältnissen des lebenden Organismus entfernt, können wir unsere Befunde vielleicht in folgender Weise deuten:

Einmal kann in der erhöhten Phosphatasewirksamkeit des Skelettgewebes bei Rachitis bereits eine Abwehrreaktion gesehen werden. Aus dem Blute sollen möglichst große Mengen anorganischen Phosphats abgespalten werden. Daß es nicht zur Verkalkung kommt, liegt nicht so sehr am lokalen P-Mangel, sofern es sich um aus Esterbindung abgespaltenen P handelt, als an den ungünstigen Verhältnissen für die Kalkbindung im rachitischen Gewebe (*Freudenberg*, *György*, *Budde*) (3).

Auf der anderen Seite können die Phosphatasen (als Phosphatesen) an der Vorbereitung der Verknöcherung beteiligt sein, etwa indem sie P in lösliche, transportable Form bringen. Bei Rachitis sind aber die

Bedingungen für den Abbau besonders günstig, also für den Aufbau vielleicht besonders ungünstig, wofür unsere Versuche allerdings bisher keinen Anhaltspunkt geben.

Zusammenfassung.

Hexosediphosphat wird von Knorpel nicht-rachitischer Säuglinge und Hunde wenig, von Knochen stärker, am stärksten vom Gewebe der Wucherungszone gespalten. Knochen und Knorpel spalten bei Rachitis wesentlich stärker, und es zeigen sich Eigentümlichkeiten des *h*-Optimums.

Dagegen spaltet rachitisches Knochenmark weniger als gesundes.

Über den Einfluß von Hormonen und Salzen auf Phosphatasen.

In den vorhergehenden Mitteilungen haben wir die Bedeutung der Wasserstoffionen für die Wirkung der Phosphatasen gezeigt. Es war anzunehmen, daß auch den übrigen Ionen ein Einfluß auf die Fermentprozesse zukommt. Da unsere Aufmerksamkeit besonders der Rachitis und Tetanie galt, war vor allem P, Ca und K zu untersuchen. Aus dem gleichen Grunde und im Anschluß an die Veröffentlichungen von *Brugsch* (4) und seinen Mitarbeitern haben wir den Einfluß einer Reihe von Hormonen auf die Phosphatasewirkung in vitro untersucht.

Wir können diese Untersuchungen kurz vorweg besprechen, da sie völlig ergebnislos verlaufen sind. In vier Versuchsreihen erwies sich Insulin ebenso unwirksam bei Hexosediphosphatspaltung durch Blutserum, wie in drei Versuchsreihen Suprarenin und in je zwei Versuchsreihen Cholinchlorid, Pituglandol und Thymoglandol. Diese Ergebnisse überraschen an sich nicht, sind aber auch nicht unwesentlich, denn sie zeigen, daß die Hormone, deren Bedeutung für Rachitis und Tetanie bekannt ist, nicht direkt die Phosphatase beeinflussen, daß also die von uns gefundenen Veränderungen der Phosphatasen bei beiden Krankheitszuständen nicht *direkt* durch Hormone (oder deren in den Präparaten enthaltenen Begleitstoffe) bewirkt werden.

Die Wirkung der Ionen wurde zunächst an Serumphosphatasen geprüft. Die Untersuchungen waren mit Schwierigkeiten verknüpft, die ihre Verwertung unmöglich machten. Erstens war das Untersuchungsmaterial beschränkt, da die Gewinnung großer Serummengen beim Säugling nicht möglich ist, Erwachsenenserum aber, wie wir gezeigt haben, nur eine geringe Fermentkraft entfaltet. Außerdem reißen die in alkalischem Bereich ausfallenden Ca- und Mg-Phosphate Eiweiß mit und Ca und Mg verschieben die Reaktion nach der sauren Seite, was besonders beim Rachitikerserum mit seinem scharf begrenzten Optimum stört.

Eine deutliche Hemmung oder Förderung des Fermentvorganges konnte weder beim Erwachsenen, noch beim gesunden oder rachitischen Säugling mit Sicherheit festgestellt werden. Wir dürfen daher wohl auf die Wiedergabe der einzelnen Versuche verzichten.

Um die Bedingungen einfacher zu gestalten, haben wir uns ein eiweißfreies, salzarmes Fermentpräparat hergestellt. Eine Reinigung im *Willstätter*schen Sinne lag zu sehr außerhalb unserer Ziele. Das

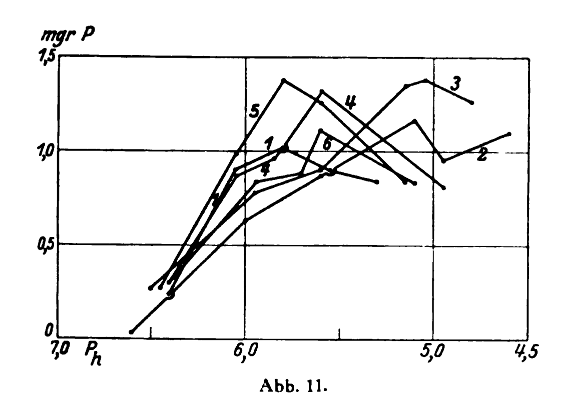


Abb. 11.

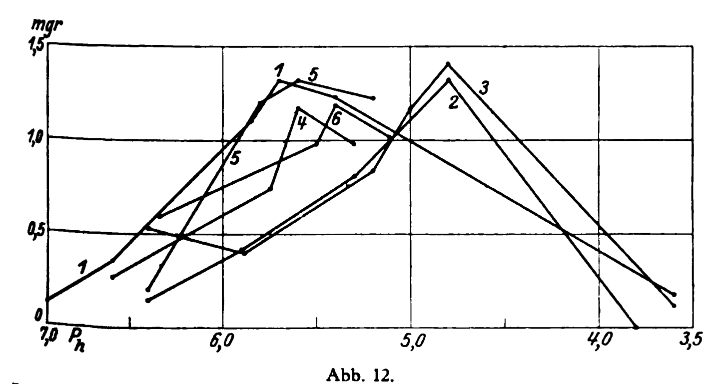


Abb. 12.

Einfluß von Kationen auf die Spaltung von Hexosediphosphat durch dialysierten Urin. 1,0 ccm Urin, Abb. 11 0,5 ccm, Abb. 12 1,0 ccm m/1 Lösungen.
1. Kontrolle (destilliertes Wasser), 2. $MgCl_2$, 3. $CaCl_2$, 4. NaCl, 5. KCl, 6. NH_4Cl.

unseren Wünschen entsprechende Präparat ließ sich auf einfache Weise in beliebiger Menge dadurch herstellen, daß wir Urin mehrere Tage gegen fließendes Wasser, dann 2 Tage gegen mehrfach gewechseltes destilliertes Wasser unter Thymolschutz dialysieren ließen. Die Präparate, deren fermentative Kraft sich praktisch nicht geändert hatte, erwiesen sich mit Sulfosalicylsäure als eiweißfrei, enthielten Cl nur noch in Spuren, und das zu den in Abb. 11 bis 13 wiedergegebenen Versuchen

benutzte Präparat enthielt 2,7 mg-Proz. P, während der Urin 80 mg-Proz. P enthalten hatte.

Von den Kationen sind Na, K und Ammonium ohne wesentlichen Einfluß. Mg und Ca verschieben, mit der Konzentration steigend, das h-Optimum nach der sauren Seite. Die Menge des abgespaltenen P ist dabei nicht erniedrigt.

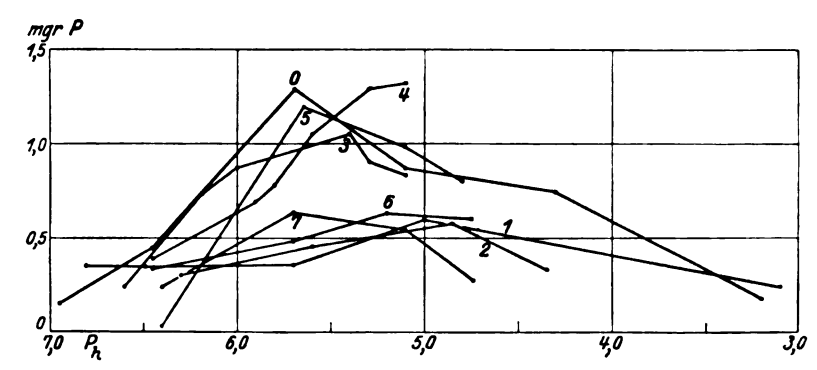


Abb. 13. Einfluß von Anionen auf die Spaltung von Hexosediphosphat durch dialysierten Urin. 1,0 ccm Urin, 1,0 ccm Zusätze. Kontrolle destill. Wasser). 1. m/10 NaH_2PO_4, 2. m/2 Na_2SO_4, 3. m/3 $Na_3C_3H_4OH(COO)_3$, 4. m/1 $NaCH_3COO$, 5. m/1 NaCl, 6. m/1 $NaNO_3$, 7. m/1 NaJ.

Umgekehrt wird durch die Anionen das h-Optimum nicht verschoben. Bei Phosphat, Sulfat und Nitrat scheinen allerdings die Optima bei p_H 5 zu liegen. Aber die Gesamtumsätze sind hier zu gering, als daß man mit Sicherheit von einer Verschiebung nach der sauren Seite sprechen könnte. Bei den Anionen ist aber deutlich eine Hemmung bei einer bestimmten Gruppe zu finden, nämlich bei Phosphat, Sulfat, Nitrat und Jodit, während Citrat, Acetat und Chlorid ohne Einfluß sind. Bei dem Zusatz von einigen der angegebenen Salze wird die Acidität des Systems zum Teil stark verschoben. Berücksichtigt wurde die endgültig entstandene $H^{\cdot}$-Konzentration.

Vom Standpunkt der *Hofmeister*reihen betrachtet, verschiebt also das Mg—Ca-Ende der Kationenreihe das h-Optimum nach der sauren Seite, während in der Anionenreihe die beiden Enden gegenüber einer Mittelgruppe hemmend wirken.

Zusammenfassung.

Hormonpräparate beeinflussen Hexosephosphatasen in vitro nicht.

Ca und Mg verschieben das h-Optimum von Phosphatasen aus dialysiertem Urin nach der sauren Seite, Phosphate, Sulfate und Nitrate hemmen.

Nachtrag zur I. Mitteilung.

Wir möchten hier zur ersten Mitteilung folgende Beobachtung nachtragen.

Wir hatten angegeben, daß wir die eigentümliche Steigerung der Fermenttätigkeit bei p_H 7,9 im Serum nur beim Rachitiker gefunden hätten. Wir konnten inzwischen diese Beobachtung verschiedentlich bestätigen. Nur einmal fanden wir das Phänomen bei einem nicht rachitischen Individuum, und zwar bei einem Mädchen mit Morbus Basedow. Auf der Höhe der Erkrankung fanden wir bei einem Serum-P-Spiegel von 6,0 mg-Proz. einen Höchstwert bei p_H 8,05 (also nicht ganz optimal!) von 3,96 P, später mit fortschreitender Besserung bei einem Serum-P von 3,80 mg-Proz. einen Höchstwert von 2,73 P bei p_H 7,9. Dem Morbus Basedow kommt ja eine gewisse Ähnlichkeit mit der Tetanie zu, außerdem hat er mit der Rachitis die erhöhte Hyperglykämie nach Adrenalin gemeinsam.

Daß dem Zuckerstoffwechsel eine Bedeutung für die Phosphatasen zukommt, ergab sich schon aus den Versuchen von *Brugsch* und seinen Mitarbeitern. Nach dem Massenwirkungsgesetz war eine Hemmung durch Zucker zu erwarten. Tatsächlich fanden wir bei Serumphosphatase unter Zusatz von 1,0 ccm 1 prom. Traubenzuckerlösung zu je 0,5 ccm Serum (also etwa Verdreifachung des Serumwertes) folgende P-Spaltung aus Na-Hexosediphosphat in Milligrammen.

	Ohne Traubenzucker				Mit Traubenzucker			
1. p_H	8,2	8,0	7,25	6,8	8,2	7,9	7,25	6,9
P	0,18	2,19	1,11	1,38	0,21	1,59	1,47	0,99
2. p_H	—	8,0	—	—	—	7,85	—	—
P	—	2,55	—	—	—	1,50	—	—
3. p_H	8,2	8,1	7,25	6,9	8,2	7,9	7,35	6,8
P	0,54	3,93	1,29	1,44	0,42	1,95	1,29	1,11
4. p_H	8,25	8,05	7,35	6,9	8,2	8,0	—	6,85
P	0,51	1,59	1,44	1,20	0,06	1,59	—	1,05

In der Regel (3 von 4 Versuchen) hemmt also Traubenzucker die Serumphosphatase.

Wir hatten ferner angegeben, daß sich bei Meningitis die Phosphatase des Liquor cerebrospinalis steigert. Es hat sich herausgestellt, daß diese Steigerung an die Anwesenheit von Leucocyten gebunden ist. Zentrifugiert man einen Meningitisliquor längere Zeit scharf, so daß die überstehende Flüssigkeit vollkommen klar wird, so findet man in dieser fast normale Werte:

Liquor genuin:	p_H	7,65	7,25	7,0	6,7	6,2
	P	0,54	1,43	1,61	1,50	0,21
Liquor zentrifugiert	p_H		7,25	7,05		
	P		0,48	0,45		

Literatur.

1) Biochem. Journ. **12**, 286, 1923; **17**, 286, 1923; **18**, 740 und 755; 1924; **19**, 153, 1925. — 2) Diese Zeitschr. **159**, 415, 1925. — 3) Ebendaselbst **110**, 299, 1920 bis **157**, 253, 1925. — 4) *Brugsch* u. *Horsters*, Klin. Wochenschrift **4**, 436, 1925.

Milchdiastase und ihre Eigenschaften.

Von

T. Chrząszcz und C. Goralówna.

(Aus dem Institut für landwirtschaftliche Technologie der Universität Poznań.)

(Eingegangen am 2. Oktober 1925.)

Allgemeiner Teil.

Die Anwesenheit der Diastase in tierischer Milch, eigentlich ihre dextrinierende Wirkung auf die Stärke, ist als nachgewiesen zu betrachten.

Zuerst wurde dieselbe im Jahre 1883 von *Béchamp* bei Frauenmilch beobachtet[1]). Frauenmilch zeichnet sich durch verhältnismäßig bedeutende diastatische Kraft aus, und daher wurde dieses von weiteren Forschern leicht festgestellt; die wenig Diastase enthaltende tierische Milch rief dagegen diesbezügliche Meinungsverschiedenheiten hervor, und so konnte schon *Béchamp* die dextrinierende Kraft der Kuhmilch nicht wahrnehmen[2]). *Spolverini* fand die diastatische Kraft in Ziegenmilch nicht, dagegen aber in Hunde-, Schweine- und Eselmilch[3]). *Morfan* stellte das Vorhandensein dieser Kraft in Kuhmilch nicht fest[4]), desgleichen *Hippius* in Kuh- und Ziegenmilch nicht[5]). *Zaitschek* fand wiederum die Diastase in Frauen-, Pferde-, Esel-, Kuh-, Ziegen- und Büffelmilch[6]). *Szontagh*[7]), *Koning*[8]), *Welzmüller*[9]) u. a. wollen die Diastase in allen untersuchten Milcharten beobachtet haben.

Wovon die Diastase in der Milch herrührt, ist sie ein fester oder ein zufälliger Bestandteil, abhängig von dem physiologischen bzw. pathologi-

---

1) *Béchamp*, C. r. **96**, 1508, 1883.
2) l. c.
3) *Spolverini*, Revue d'hygiene et de med. **1**, 3, 1902.
4) *Morfan*, Bullet. medic. **25**, 290, 1902.
5) *Hippius*, Prakticz. Wracz. **21**, 505, 1903.
6) *Zaitschek*, Biochem. Zentralbl. **3**, 968, 1904/05.
7) *Szontagh*, Jahr. u. Kinderheilk. **36**, 1905.
8) *Koning*, Biol. u. biochem. Studien d. Milch. 1908, S. 27.
9) *Welzmüller*, diese Zeitschr. **125**, 179, 1921.

schen Zustande des Tieres, oder hängt sie mit der Infektion der Milch zusammen? Darüber geben die bisherigen Untersuchungen noch keine richtige Klärung, und in der Literatur finden wir Widersprüche über die Eigenschaften der Milchdiastase.

Spolverini ist der Ansicht, daß die Diastase von der Nahrung des Tieres abhängig sei, und glaubt, daß die Milchdrüsen die Fähigkeit besitzen, einen Überschuß an Enzymen aus dem tierischen Organismus auszuscheiden. Bei kohlehydrathaltiger Fütterung findet er viel weniger Diastase in der Milch, und dieselbe verschwindet sogar gänzlich, wenn sie dem Organismus zur Verarbeitung der Stärke notwendig ist. Auch bei Fütterung diastasereicher Produkte, wie Malzkeime, zeigt sich die Diastase in größerer Menge in Kuh- und Ziegenmilch. Bei 70° C geht die Diastase zugrunde[1]). Nach den Angaben von *Morfan* wird die Diastase bei einer höheren Temperatur — 76° C — vernichtet[1]).

Koning findet die beste Diastasewirkung bei 37 bis 45° C, leicht überwiegend nach 45° C hin. 100 ccm normaler Milch sollten in 30 Minuten 0,015 bis 0,020 g löslicher Stärke dextrinieren, eine größere Diastasemenge ist Beweis eines krankhaften Zustandes der Milchdrüsen. Die ersttermolkene Milch ist diastasereicher als die letztermolkene, kurz vor dem Kalben zeigt sich mehr Diastase, und das Colostrum enthält mehr Diastase als normale Milch. Einige Milchbakterien zeigen kleine Diastasemengen. Bei 30 Minuten langem Erwärmen bei 65 bis 68° C geht die Diastase zugrunde[1]).

Welzmüller hält die Milchdiastase für eine andere Art als die Malzamylase bzw. die der Pankreasdiastase, ihr Optimum liegt bei 37° C, oberhalb 42° C wird dasselbe schon abgeschwächt[1]). *Rullmann* hält die Diastase tierischen Ursprungs[2]). *Wohlgemuth* und *Strich* sind wiederum der Ansicht, es sei nicht ausgeschlossen, daß die Diastase durch Lymphe zugeführt wird[3]). *Oppenheimer* bezweifelt die tierische Herkunft der Milchenzyme, indem er auf die großen Schwierigkeiten, ganz sterile Milch beim Melken zu erhalten, hinweist. Er glaubt ferner, daß ein Zusammenhang der Leucocyten mit den Milchfermenten besteht[4]).

Experimenteller Teil.

Die Milch haben wir auf die stärkelösende, dextrinierende und verzuckernde Kraft hin untersucht. Zur Abschätzung der diastatischen Kraft bedienten wir uns der Jodmethode, da dieselbe am schnellsten die Resultate der dextrinierenden Kraft der Milch gibt. Nach einer Reihe von Vorversuchen haben wir folgende Methode ausgearbeitet. Zu einer Reihe Kölbchen mit je 25 ccm Milch, die bei entsprechender Temperatur gehalten werden, tut man 1 bis 5 ccm 1proz. lösliche Stärke, beobachtet den Dextrinierungsverlauf der Stärke, indem man

---

[1]) l. c.

[2]) *W. Rullmann*, Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, **71**, 165, 1913.

[3]) *J. Wohlgemuth* und *M. Strich*, Sitzungsber. Berlin. Akad. **25**, 520, 1910.

[4]) *C. Oppenheimer* und *R. Kuhn*, Die Fermente und ihre Wirkungen, 1925, S. 404.

von Zeit zu Zeit 2 ccm Milch herausnimmt, mit 1 ccm 0,2proz. Jod versetzt und so die Farbe feststellt. Da die Farbe sich beim Stehen verändert und verblaßt, ist für die Reaktion nur diejenige maßgebend, die sich sofort nach Zugabe des Jods zeigt. Um den Einfluß der verschiedenen Jahreszeiten auf die Milch zu beobachten, haben wir die Untersuchungen ein ganzes Jahr lang durchgeführt; die Milch erhielten wir von verschiedenen Kühen des Universitätsgutes Golęcin. Auf solche Weise bekamen wir ein großes Zahlenmaterial, geben aber hier nur so viel, wie zur Klärung der Resultate notwendig, wieder.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.

Verwendet wurde eine Durchschnittsmilchprobe; Fettgehalt 3,1 Proz. Ferner Milch einer 7jährigen Kuh, Fettgehalt 4,2 Proz. und einer 12jährigen. Fettgehalt 2,7 Proz. Zu je 25 ccm mit Acetatpuffergemischen versetzte Milch wurden 2 ccm 1proz. löslicher Stärke zugetan und bei 30° C im Thermostaten gehalten. Die Zeitdauer der Dextrinierung, in der man eine hellgraugelbe Jodreaktion erzielte, wurde festgestellt und ergab folgendes:

Milch

p_H	Durchschnittsprobe Fettgehalt 3,1 Proz.	Von 7 jähriger Kuh Fettgehalt 4,2 Proz.	Von 12 jähriger Kuh Fettgehalt 2,7 Proz.
	Dextrinierte 2 ccm 1 proz. lösliche Stärke nach		
4,6	240 Minuten, aber nicht vollständig	200 Minuten	240 Minuten, aber nicht vollständig
4,8	195 Minuten	140 „	240 Minuten Ebenso
5,0	160 „	125 „	240 Minuten
5,2	140 „	115 „	190 „
5,4	130 „	100 „	180 „
5,6	110 „	80 „	160 „
5,8	100 „	75 „	140 „
6,0	90 „	75 „	130 „
6,2	95 „	80 „	125 „
6,4	105 „	90 „	135 „
6,7	120 „	100 „	160 „
Milch direkt 6,0	95 „	80 „	130 „

Die günstigste Wasserstoffionenkonzentration der Milchdiastase liegt bei $p_H = 5,8$ bis 6,2, eine kräftiger dextrinierende Milch zeigt eine bessere Wirkung bei p_H 5,8 bis 6,0, eine schwächer dextrinierende bei $p_H = 6,0$ bis 6,2. Diese Resultate stimmen mit unseren früheren Beobachtungen über die günstigste Wasserstoffionenkonzentration auf die dextrinierende Wirkung der Malzamylase überein, bei denen wir festgestellt haben, daß eine feste optimale Wasserstoffionenkonzentration nicht existiert[1]).

[1]) *T. Chrząszcz*, Roczniki Nauk Rolniczych, **18**, Nr. 2, 1925; *T. Chrząszcz*, *Z. Bidziński* und *A. Krause*, diese Zeitschr. **160**, 155, 1925.

Untersucht man eine mehrere Stunden stehende normale Handelsmilch sowie die Milch vom Universitätsgute, die bis zum nächsten Tage stand, so sehen wir eine Wasserstoffionenkonzentration $p_H = 5,0$ bis 5,5. Die dextrinierende Kraft solcher Milch sollte sich eigentlich schwächer erweisen, zeigt sich aber kräftiger als normale[1]). Läßt man solche Milch noch länger stehen, so steigt der Säuregehalt, dagegen vermindert sich die enzymatische Kraft. Überimpft man frische mit einer solchen schwachsauren Milch, so zeigt sich ziemlich schnell ein $p_H = 5,5$ bis 5,0, und die enzymatische Kraft steigt gleichzeitig, mitunter sogar ziemlich beträchtlich. Die mikroskopische Untersuchung solcher Milch zeigt eine sehr große Menge von Bakterien.

	Milch vom Universitätsgute		Handelsmilch	
	direkt $p_H = 6,2$	1 Std. bei 75° C gekocht	direkt $p_H = 5,9$	1 Std. bei 75° C gekocht
2 ccm 1 proz. löslicher Stärke dextrinierten . . . . in Min.	105	240 = 0	145	240 = 0
Versetzt mit Acetatpuffergemischen, p_H 5,5, dextrinierte die Stärke . . . . . . in Min.	135	240 = 0	185	240 = 0
11 Std. überlassen ohne Puffergemische . . . . p_H	5,6	—	5,1	—
dextrinierte die Stärke in Min.	75	—	95	—
Nach weiteren 10 Std. zeigte p_H	4,8	—	4,5	—
dextrinierte die Stärke in Min.	115	—	195	—
Die gekochte Milch versetzt mit d. letzteren zeigte nach 12 Std. p_H	—	5,6	—	5,3
und dextrinierte 2 ccm 1 proz. löslicher Stärke bis zur Jodreaktion	—	violett	—	violettgrau

Daraus geht hervor, daß die Bakterien der Milch imstande sind, die dextrinierende Wirkung derselben, bei gleichzeitigem Ansäuern, zu bekräftigen. Übersteigt die Acidität $p_H = 5$ nicht, so zeigt die Milch eine kräftige dextrinierende Wirkung, welche, sobald der Säuregrad steigt, abnimmt. Auf die dextrinierende Kraft der Milchbakterien hat schon *Koning*[2]) hingewiesen. Diese Bakterien sind aber nicht die einzige Diastasequelle der Milch, sie sind nur imstande, bei entsprechenden Bedingungen die Diastasemenge der Milch zu vergrößern. Dementsprechend führen wir weitere Untersuchungen mit frischer normaler Milch bei $p_H = 6,0$ als durchschnittlich günstigste Wasserstoffionenkonzentration der Milchdiastase aus.

Temperatureinfluß.

Die von verschiedenen Autoren angegebene günstigste Temperatureinwirkung der Milchdiastase ist nicht gleich, sie schwankt zwischen 35 bis 45° C. Um die Ursache dieses Schwankens aufzuklären, haben wir Milch von vier Kühen zu unseren Untersuchungen verwendet und erzielten folgende Zahlen:

---

[1]) *L. Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration 1914.

[2]) l. c.

Tägliches Milchquantum der Kühe.

	14 Liter	10 Liter	3 Liter	5 Liter	
Fettgehalt	2,6 Proz.	2,8 Proz.	4,7 Proz.	3,4 Proz.	
Dextriniert 1 proz. lösl. Stärke	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	2 ccm
bei 15° C	in 45 Min.	in 45 Min.	in 35 Min.	in 35 Min.	—
„ 20	„ 35 „	„ 35 „	„ 30 „	„ 30 „	in 105 Min.
„ 25	„ 35 „	„ 30 „	„ 25 „	„ 25 „	„ 85 „
„ 30	„ 40 „	„ 35 „	„ 20 „	„ 25 „	„ 80 „
„ 35	„ 45 „	„ 40 „	„ 20 „	„ 30 „	„ 95 „
„ 40	„ 55 „	„ 45 „	„ 25 „	„ 35 „	„ 120 „
„ 45	„ 80 „	„ 70 „	„ 50 „	„ 60 „	„ 165 „
„ 50	„ 170 „	„ 160 „	„ 120 „	„ 125 „	„ 195 „

Die Tabelle zeigt uns, daß die günstigste Temperatur der Milchdiastase von ihrer Menge in der Milch abhängt. Je mehr Diastase in der Milch, desto höhere Temperatur erweist sich als die günstigste, bei kleiner Diastasemenge ist 20 bis 25° C die beste Temperatur, bei großer Menge die Temperaturen bis 40° C. Gleichzeitig hat hier die Wasserstoffionenkonzentration und die zugesetzte Stärkemenge zu der Milch einen Einfluß. Abhängig von diesen Bedingungen ist die günstigste Temperatur der dextrinierenden Wirkung der Milch zwischen 20 bis 40° C.

Aus den erhaltenen Zahlen sieht man auch, daß die Menge der Milchdiastase von der Individualität des Tieres, von der Milchmenge, die es gibt und von dem Milchfettgehalt abhängig ist, worauf wir weiter zurückkommen.

Auf die Abhängigkeit der günstigsten Temperatur von der Amylasenmenge haben wir schon bei den Untersuchungen über die dextrinierende Wirkung der Malzamylase hingewiesen[1]). Dasselbe ist auch aus folgendem Beispiel zu ersehen. Den Malzauszug, bei dem man annimmt, daß er am besten die Stärke oberhalb 50° C dextriniert, haben wir so stark verdünnt, daß 1 ccm von demselben, 2 ccm 1 proz. Stärkelösung, zugetan zu 25 ccm Wasser, in etwa 2 Stunden dextriniert.

Malzauszug dextriniert 2 ccm 1 proz. Stärkelösung in 25 ccm destillierten Wassers.

Temperatur	In 60 Minuten Jodreaktion	Gelbe Jodreaktion	In 30 Minuten Jodreaktion	In 60 Minuten Jodreaktion	Gelbe Jodreaktion
	I.		II.		
20° C	braun	in 115 Min.	—	—	—
25	hellbraun	„ 110 „	—	—	—
30	braunrot	„ 100 „	braun	rotbraun	in 95 Min.
35	dunkelrot	„ 90 „	hellbraun	„	„ 90 „
40	rot	„ 90 „	rotbraun	rot	„ 90 „
45	dunkelrot	„ 105 „	„	„	„ 100 „
50	„	„ 115 „	dunkelrot	dunkelrot	„ 105 „
55	braunrot	„ 125 „	—	—	—

[1]) l. c.

Wir sehen, daß bei so kleiner Amylasenmenge die günstigste Temperatur im ersten Falle nach 60 Minuten bei 40° C ist, die sich bei längerer Dextrinierung bei 35 bis 40° C zeigt. Im zweiten Falle erweist sich 50° C nach 30 Minuten Einwirkung als am besten, 40 bis 45° C nach 60 Minuten und 35 bis 40° C nach 90 Minuten. Vergrößert man die Diastase der Milch durch Zusatz von Malzauszug, so kann man die günstigste Dextrinierungstemperatur nach Belieben verschieben, Beispiel:

25 ccm Milch dextrinierten 2 ccm 1 proz. Stärkelösung

bei Temperatur	30°	35°	40°	45°	50°	55°	60°	65°
	in Minuten							
Milch allein	85	95	125	160	200	—	—	—
" + ½ ccm Malzauszug	70	60	55	55	65	85	155	—
" + 1 ccm Malzauszug	34	27	23	20	19	18	21	26

Die Tabellen zeigen, daß bei kleiner Diastasemenge, die wir gewöhnlich in der Milch finden, die günstigste Dextrinierungstemperatur bei 30° C liegt. Vergrößern wir durch Zugabe von ½ ccm 0,3 proz. Malzauszugs die Diastasemenge, so ist die günstigste Temperatur bei 40 bis 45° C, bei Zusatz von 1 ccm Malzauszug bei 55° C.

Die angegebenen Beweise stellen zur Genüge klar, daß auch bei Milchdiastase keine feste optimale Temperatur existiert, sondern von der Diastasemenge in der Milch und von Bedingungen, bei welcher sie zur Wirkung kommt, abhängig ist.

Diastaseverteilung in der Milch.

Die Milch ist kein einheitliches Produkt; man kann deshalb schon im voraus annehmen, daß auch die Diastase nicht gleichmäßig in der ganzen Milch verteilt ist. Zur Feststellung haben wir die erst- und letztermolkene Milch verschiedener Kühe verwendet. Nach der Fettbestimmung wurde zu je 25 ccm Milch, bei $p_H = 6$, 2 ccm 1 proz. Stärkelösung zugetan und bei 30° C die Zeitdauer der Dextrinierung geprüft.

Nr.	Tägliches Quantum	Erstermolkene Milch: Fettgehalt	Erstermolkene Milch: dextriniert 2 ccm 1 proz. Stärkelösung	Letztermolkene Milch: Fettgehalt	Letztermolkene Milch: dextriniert 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
1	3 Liter	2,0 Proz.	in 85 Min.	5,5 Proz.	in 70 Min.
2	4 "	2,1 "	" 60 "	6,2 "	" 40 "
3	7 "	1,9 "	" 100 "	6,0 "	" 80 "
4	12 "	1,5 "	" 125 "	5,3 "	" 100 "
5	17 "	1,7 "	" 110 "	6,0 "	" 95 "
6	20 "	1,45 "	" 160 "	4,7 "	" 150 "

Die Diastase ist nicht gleichmäßig in der Milch verteilt; die letztermolkene hat mehr, oft sogar erheblich größere Diastasemengen als die erstermolkene Milch. Diese Beobachtungen stimmen nicht mit denen von *Koning*[1]) überein. Wir können uns dieses nur durch ungünstig angewandte Temperatur von *Koning* (Nichtberücksichtigen der Wasserstoff-

[1]) l. c.

ionenkonzentration) und auch durch wahrscheinlich ungenügendes Ausmelken der Kühe erklären; denn die letztermolkene weist gerade den großen Diastaseunterschied im Vergleich zur erstermolkenen Milch auf.

Einfluß von Vollmilch, Magermilch und Rahm.

Schon die vorher erwähnten Beispiele zeigen, daß zwischen dem Fett- und Diastasegehalt der Milch ein Zusammenhang besteht. Es handelt sich darum, ob dieser Zusammenhang ein fester oder ein relativer ist. Zur Untersuchung wurde Milch von mehreren Kühen mit verschiedenem Fettgehalt genommen und festgestellt, in welcher Zeit die Stärke $p_H = 6$ bei 30° C dextriniert.

Milch

Nr.	Fettgehalt	dextriniert 2 ccm 1 proz. Stärkelösung	Nr.	Fettgehalt	dextriniert 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
1	2,6 Proz.	in 105 Min.	4	3,55 Proz.	in 90 Min.
2	2,75 „	„ 100 „	5	3,6 „	„ 95 „
3	2,8 „	„ 105 „	6	3,85 „	„ 70 „

Je mehr Fett in der Milch, um so kräftiger wirkt sie dextrinierend. Milch von zwei Kühen mit ungefähr gleichem Fettgehalt kann trotzdem nicht dieselbe dextrinierende Kraft aufweisen.

Auf Grund dieser Untersuchungen kann man im voraus annehmen, daß der rahmhaltige Teil eine kräftigere Dextrinierung als Magermilch zeigt. Zu diesem Zwecke haben wir Milch bei 15° C etwa 4 Stunden stehengelassen, abgerahmt und dann Rahm, Voll- und Magermilch auf ihre dextrinierende Wirkung untersucht.

Tägliches Milchquantum von Kühen		Fettgehalt Proz.	Dextriniert 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
4 Liter	Vollmilch	3,8	in 60 Min.
	Magermilch	1,45	„ 75 „
	Rahm		„ 45 „
8 Liter	Vollmilch	3,05	„ 105 „
	Magermilch	1,0	„ 125 „
	Rahm		„ 60 „
14 Liter	Vollmilch	2,45	„ 185 „
	Magermilch	1,25	„ 220 „
	Rahm		„ 95 „

Am meisten Diastase enthält der fetthaltige Teil der Milch, und Rahm weist deshalb auch die beste, Vollmilch eine etwas schwächere und Magermilch die schwächste Dextrinierung auf. Da der prozentische Fettgehalt der Milch im Zusammenhang mit dem Milchquantum der Kuh steht, ist es interessant festzustellen, wie die dextrinierende Kraft im Vergleich zur diesbezüglichen Milchmenge steht.

Tägliches Milchquantum der Kühe	25 ccm Milch dextrinieren 2 ccm 1 proz. Stärkelösung bei 30° C	Tägliches Milchquantum der Kühe	25 ccm Milch dextrinieren 2 ccm 1 proz. Stärkelösung bei 30° C
20 Liter	in 175 Min.	9 Liter	in 140 Min.
17 „	„ 195 „	6 „	„ 95 „
15 „	„ 160 „	4 „	„ 80 „
11 „	„ 145 „		

Milch einer wenig gebenden Kuh zeigt sich diastasereicher als die einer viel gebenden. Die Unterschiede treten nicht immer so scharf hervor, wahrscheinlich spielen dabei Fettgehalt und andere Bedingungen eine Rolle.

Einfluß der Melkzeit.

25 ccm Milch, $p_H = 6$, dextrinierten bei 30° C 2 ccm 1 proz. Stärkelösung.

	Melkzeit	
Mischmilch	Melkzeit: abends	in 165 Min.
	früh	„ 150 „
	nachmittags	„ 160 „
Milch einer 7 Liter gebenden Kuh	abends	„ 105 „
	früh	„ 85 „
	nachmittags	„ 95 „
	abends	„ 100 „

Die größte dextrinierende Wirkung zeigt die Frühmilch, die schwächste die Abendmilch.

Einfluß der beiden Euterhälften.

Um die Milcheigenschaft der einzelnen Euterhälften zu prüfen, haben wir Milch von zwei Kühen mit verschiedenem täglichen Milchquantum und Fettgehalt dazu verwendet.

Tägliches Milchquantum.

	5 Liter		11 Liter
	Frühmilch	Nachmittagsmilch	Frühmilch
	dextrinieren bei 30° C 2 ccm 1 proz. Stärkelösung		
Linkes hinteres Euterviertel . . .	in 70 Min.	in 70 Min.	in 95 Min.
Rechtes „ „ . . .	„ 65 „	„ 80 „	„ 100 „
„ vorderes „ . . .	„ 70 „	„ 75 „	„ 100 „
Linkes „ „ . . .	„ 75 „	„ 80 „	„ 105 „

Bei dem Milchdiastasegehalt der einzelnen Euterhälften finden wir keinen regelmäßigen Unterschied, die Schwankungen des Diastasegehalts sind nicht groß.

Einfluß des Kuhhalters.

In diesen Versuchen nahmen wir Kühe verschiedenen Alters mit ziemlich gleicher Milchmenge, etwa 9 Liter täglich.

Alter	25 ccm Milch dextrinierten 2 ccm 1 proz. Stärkelösung bei 30°	Alter	25 ccm Milch dextrinierten 2 ccm 1 proz. Stärkelösung bei 30°
14 Jahre	in 145 Min.	6 Jahre	in 90 Min.
11 „	„ 120 „	5 „	„ 100 „
8 „	„ 105 „	5 „	„ 85 „
8 „	„ 90 „	4 „	„ 85 „

Es zeigt sich also, daß die Milch einer älteren Kuh durchschnittlich diastaseärmer als die einer jungen bei gleichen Bedingungen ist.

Einfluß der Verdünnung und des Zusatzes antiseptischer Mittel.

Milch	dextrinierte 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
durchschnittliche	in 105 Min.
„ + 25 ccm Wasser	„ 165 „
„ + 0,1 „ Formalin	„ 140 „

Im voraus konnte man annehmen, daß die Verdünnung der Milch, ebenso der Zusatz antiseptischer Mittel die dextrinierende Wirkung der Milch abschwächt.

Einfluß der Trächtigkeit der Kühe.

Die Untersuchungen wurden wie gewöhnlich ausgeführt.

Zeit vor der Geburt	25 ccm Milch dextr. 2 ccm 1 proz. Stärkelösung	Zeit vor der Geburt	25 ccm Milch dextr. 2 ccm 1 proz. Stärkelösung	Zeit vor der Geburt	25 ccm Milch dextr. 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
5. I.	in 90 Min.	20. I.	in 15 Min.	25. I.	in 70 Min.
8. I.	„ 75 „	22. I.	„ 3 „	26. I.	„ 80 „
11. I.	„ 65 „	Tag des Kalbens		27. I.	„ 85 „
14. I.	„ 50 „	23. I.	„ 20 „	29. I.	„ 80 „
17. I.	„ 30 „	24. I.	„ 50 „		

Das Colostrum einer anderen Kuh zeigte:	und dextrinierte 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
nach dem Kalben	in 5 Min.
„ „ „ 2. Tage	„ 15 „
„ „ „ 3. Tage	„ 45 „
„ „ „ 4. Tage	„ 80 „

Übereinstimmend mit den Angaben von *Koning* gibt das Colostrum eine viel kräftigere dextrinierende Wirkung der Stärke. Die Zunahme der dextrinierenden Wirkung der Milch zeigt sich schon einige Tage vor dem Kalben und steigt immer mehr, so daß sie am Tage des Kalbens ihren Höhepunkt erreicht hat. Dann fällt die dextrinierende Wirkung der Milch und zeigt am vierten Tage nach dem Kalben wieder ihren normalen Gehalt.

Da das Colostrum eine viel größere Diastasemenge als normale Milch aufweist, so muß nach unserer Anschauung dasselbe auch eine höhere optimale Temperatur der dextrinierenden Wirkung zeigen. Zur Feststellung haben wir das Colostrum zweier Kühe verwandt, zu je 25 ccm 5 ccm 1 proz. Stärkelösung zugesetzt und bei verschiedenen Temperaturen eingewirkt.

Temperatur	Colostrum am 3. Tage von einer 15 Liter gebenden Kuh	Colostrum am 2. Tage von einer 22 Liter gebenden Kuh	Temperatur	Colostrum am 3. Tage von einer 15 Liter gebenden Kuh	Colostrum am 2. Tage von einer 22 Liter gebenden Kuh
	dextriniert 5 ccm 1 proz. Stärkelösung			dextriniert 5 ccm 1 proz. Stärkelösung	
25°	in 145 Min.	—	50°	in 210 Min.	—
30	„ 120 „	in 135 Min.	55	„ 240 „ nicht vollst. dextr.	—
35	„ 110 „	„ 105 „			
40	„ 125 „	„ 100 „	60	in 240 Min. nicht vollst. dextr.	—
45	„ 160 „	„ 120 „			

Die günstigste Temperatur zeigt sich im ersten Falle bei 35° C, im zweiten bei 40° C, dagegen ist 30° C, die sich bei normaler Milch gewöhnlich als am günstigsten erweist, hier schlechter als 45° C.

Einfluß der Fütterung.

Wie schon vorher erwähnt, ist *Spolverini* der Ansicht[1]), daß durch die Milchdrüsen ein Überschuß an Enzymen in die Milch ausgeschieden wird. Bei stärkehaltiger Nahrung, wobei der Organismus die Diastase benötigt, befindet sich in der Milch nur eine kleine Diastasemenge, die oft sogar vollständig verschwindet.

Planmäßige Fütterungsversuche haben wir zwar nicht durchgeführt, doch auf die Art der Nahrung immer Rücksicht genommen, was uns folgendes zeigt:

Milch bei Fütterung mit	dextriniert 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
Kartoffeln, Rüben, Stroh, Heu und Kuchen	in 100 bis 180 Min.
„ Kuchen und Luzerne	„ 90 „ 120 „
Luzerne oder Klee	„ 65 „ 90 „
Fällt aber in einigen Tagen und dextriniert nachher solche Milch	„ 80 „ 120 „
Auf Weiden und nachher Zugabe von Luzerne . .	eine sehr starke Dextr.
Nach einigen Tagen	in 70 bis 120 Min.

Trockene Nahrung bewirkt die Verminderung der diastatischen Kraft der Milch, Grünfutter dagegen eine Steigerung; Kartoffel neben Grünfutter schwächt die dextrinierende Kraft der Milch nicht.

Die kleinen Schwankungen der Diastasemenge, die wir bei verschiedener Nahrung in der Milch finden, kann man — nach Meinung *Spolverinis* — nicht durch den vergrößerten oder verminderten Gebrauch von Diastase durch den Organismus zur Verdauung stärkehaltiger Nahrung erklären, sondern auf die physiologische Disposition des Tieres, die durch entsprechende Nahrung hervorgerufen wird, zurückführen. Sollte der Organismus, bei entsprechenden Bedingungen, die zur Verdauung nicht notwendigen Enzyme durch die Milchdrüse ausscheiden, so müßten die Schwankungen in der Milchdiastase — bei verschiedener Nahrung — entsprechend groß sein; das finden wir nicht. Schließlich sehen wir in der Milch eine so geringe Diastasemenge, daß dieses Ausscheiden bzw. Zurückhalten durch die Verdauungsorgane überhaupt keinen nennenswerten Einfluß auf die Verdauung stärkehaltiger Substanzen haben könnte.

Einfluß der Euterentzündung.

Während der Untersuchungszeit ist ein Fall von Eutererkrankung vorgekommen, der um so interessanter war, da nur ein Euterviertel erkrankte und die anderen drei gesund blieben. Das kranke Euterviertel wurde täglich einige Male ausgemolken und gab eine gelbliche, trübe, klebrige Flüssigkeit, die eine Wasserstoffionenkonzentration $p_H = 8,1$ zeigte. Der kranke Zustand steigerte sich und erreichte am dritten Tage den Höhepunkt, worauf der Heilungsprozeß rasch vonstatten ging. Die kranke Milch zeigte folgende Dextrinierungskraft:

---

[1]) l. c.

Tag der Krankheit	25 ccm Milch dextrinierten bei 30° 2 ccm 1 proz. Stärkelösung	
	erkranktes Euterviertel	gesundes Euterviertel
2.	in 45 Min.	in 90 Min.
3.	„ 10 „	„ 85 „
4.	„ 50 „	„ 85 „
5.	„ 80 „	„ 90 „

Die diastatische Kraft steigert sich mit Erkrankung des Euters und kommt mit Heilung wieder auf ihren normalen Gehalt.

Quantitative Bestimmung der diastatischen Kraft.

Zur genauen Bestimmung der dextrinierenden Kraft haben wir die Grammenge löslicher Stärke, die bei 30° C durch 100 ccm Milch in 1 Stunde dextriniert wird, beobachtet. Wir fügten zu je 25 ccm Milch steigende Mengen 1 proz. Stärkelösung (0,25 ccm, 0,50 ccm usw.) und stellten bei 30° C und einstündigem Einwirken fest, wo eine vollständige Dextrinierung — hellgelbe Jodreaktion — stattfand. Die Stärkemenge, die unter diesen Bedingungen dextriniert, multipliziert man mit 4, und das entspricht der Stärkemenge, die durch 100 ccm Milch dextriniert wird.

Tägliche Milchmenge der Kühe.

	4 Liter mit 3,5 Proz. Fettgehalt	7 Liter mit 3 Proz. Fettgehalt	12 Liter mit 2,95 Proz. Fettgehalt
	25 ccm dextr. in 60 Min. bei 30° bis zur Jodreaktion		
0,25 ccm 1 proz. löslicher Stärke	gelb	gelb	gelb
0,50 „	„	„	„
0,75 „	„	„	„
1,00 „	„	„	„
1,25 „	„	„	„
1,50 „	„	„	hellgelbgrau
1,75 „	„	hellgelbgrau	gelbgrau
2,00 „	hellgelbgrau	gelbgrau	grau
2,25 „	gelbgrau	grau	„
2,50 „	grau	„	violettgrau
100 ccm dextrinierter Stärke	0,08 g	0,07 g	0,06 g
Die ganze Milchmenge dextriniert	3,2 g	4,9 g	7,2 g

Die diastatische Kraft der Milch einer wenig gebenden Kuh, trotzdem sich dieselbe kräftiger als bei einer vielgebenden erweist, zeigt, umgerechnet auf die ganze Milchmenge, gerade das Gegenteil, d. h., daß die Milch einer viel gebenden Kuh viel mehr Stärke dextriniert als die einer wenig gebenden.

Koning nimmt eine viel schwächere Dextrinierungskraft der Milch an, 100 ccm normaler Milch sollte nach 30 Minuten nur 0,015 bis 0,020 g lösliche Stärke dextrinieren. Unsere Untersuchungen geben überhaupt ein viel kräftigeres Dextrinieren der Milch, was wir durch Anwendung einer wirklich günstigen Temperatur, entsprechender Wasserstoffionenkonzentration und scharf ausgeführter Jodreaktion erzielen.

Das Inaktivieren.

Eine Reihe Kölbchen mit je 25 ccm Milch, $p_H = 6$, wurde bei verschiedener Temperatur 60 Minuten gehalten, nach dem Abkühlen mit

2 ccm 1proz. löslicher Stärke versetzt und bei 30° C die Dextrinierungsfähigkeit beobachtet.

60 Min. erwärmte Milch	Milch von einer 4 Liter täglich gebenden Kuh		Milch von einer 12 Liter täglich gebenden Kuh	
	dextriniert bei 30° 2 ccm 1 proz. Stärkelösung bis zur Jodreaktion			
	in 90 Min.	in 180 Min.	in 90 Min.	in 180 Min.
bei 50°	violettgrau	grau	blau	violett
„ 60	violett	violettgrau	„	violettblau
„ 70	blau	blau	„	blau
„ 80	„	„	„	„
„ 90	„	„	„	„

Eine vollständige Inaktivierung zeigt sich oberhalb 60° C.

Ähnliche Versuche stellten wir mit dem Unterschied an, daß zur Milch statt 2 ccm nur 1 ccm zugesetzt und die Dextrinierung bei 25° C ausgeführt wurde.

60 Min. erwärmte Milch	25 ccm dextrinierten bei 25° 1 ccm 1 proz. Stärkelösung bis zur Jodreaktion		
	in 60 Minuten	in 90 Minuten	
bei 35°	gelbgrau	gelb	in 70 Min. gelb
„ 40	grau	gelbgrau	„ 100 „ „
„ 50	graublau	grau	„ 145 „ gelbgrau
„ 60	blau	blauviolett	„ 240 „ blaugrau
„ 65	„	blau	„ 240 „ blau
„ 70	„	„	„ 240 „ „
„ 80	„	„	„ 240 „ „

Bei 65° C tritt eine vollständige Inaktivierung ein.

Das Colostrum zeigt, bei gleichen Bedingungen untersucht, eine etwas höhere Inaktivierungstemperatur, 65 bis 70° C.

Diese Beobachtungen können auch einen praktischen Wert, und zwar das Feststellen des Pasteurisierens der Milch verfolgen. Wenn man bei Anwendung der Jodreaktion — bei 25 ccm Milch, versetzt mit 1 ccm 1proz. Stärkelösung, 30 Minuten bei 25° C gehalten — eine vollständig blaue Farbe erzielt, so ist diese Milch mindestens 30 Minuten bei 70° C eventuell höherer Temperatur pasteurisiert; zeigt sich dagegen eine blaue Farbe, mit einem Stich ins Violette, so ist die Milch nicht solange oder bei einer niedrigeren Temperatur pasteurisiert. Auf Grund der Jodreaktion könnte man also Temperatur und Zeitdauer des Pasteurisierens der Milch bestimmen.

Einfluß der Caseinausscheidung.

Da wir festgestellt haben, daß der rahmhaltige Teil mehr Diastase enthält und *Sato* dieselbe auch im Cheddarkäse findet[1]), wäre es interessant zu beobachten, wie sich die Milchdiastase bei Caseinausscheidung verhält. Zu diesem Zwecke haben wir Milch mit Lab versetzt, das ausgeschiedene Casein abfiltriert und die zurückgebliebene Molke auf ihre dextrinierende Wirkung untersucht.

[1]) *Sato*, Biochem. Journ. 14, 120, 1920.

Temperatur	25 ccm Milch dextrinierten 2 ccm 1 proz. Stärkelösung	25 ccm Molke dextrinierten 1 ccm 1 proz. Stärkelösung
25°	in 75 Minuten	in 160 Minuten
30	„ 70 „	„ 170 „
35	„ 80 „	„ 210 „

Mit dem Casein wird auch Milchdiastase ausgeschieden, so daß in der Molke nur ein kleiner Teil derselben verbleibt; das Colostrum zeigte gleiche Resultate.

Temperatur	25 ccm Colostrum dextrinierten 3 ccm 1 proz. Stärkelösung	25 ccm Molke dextrinierten 2 ccm 1 proz. Stärkelösung
25°	in 70 Minuten	in 125 Minuten
30	„ 60 „	„ 90 „
35	„ 55 „	„ 95 „
40	„ 60 „	„ 100 „
45	„ 80 „	„ 130 „

Die stärkelösende Kraft der Milch.

Wenn in der Milch eine Diastase mit voller Kraft vorhanden wäre, so müßte dieselbe auch stärkelösende Fähigkeiten aufweisen. Zur Feststellung haben wir die Methoden *Lintner-Sollid* und *Pollack* mit unseren Ergänzungen gebraucht[1]), wodurch man ganz kleine Diastasemengen bestimmen kann. Es zeigt sich aber, daß man mittels dieser Methoden die stärkelösende Kraft nicht feststellen kann. Die Methode *Windisch-Dietrich-Kolbach*[2]) ist hier, infolge der Schwierigkeiten, eine sehr kleine Maltosemenge bei Gegenwart großer Milchzuckermengen zu bestimmen, nicht anwendbar; wir haben daher eine indirekte Bestimmung ausgeführt. Wenn nun die Milch eine stärkelösende Fähigkeit besitzt, so müßte auch der Stärkekleister einer vollständigen Dextrinierung unterliegen. Zu zwei Milchproben wurde zu einer Stärkelösung, zur anderen Stärkekleister zugesetzt und bei 30° C eingewirkt.

Tägliche Milchmenge der Kühe

4 Liter		11 Liter	
25 ccm Milch dextrinierten 2 ccm 1 proz.			
lösliche Stärke	Stärkekleister	lösliche Stärke	Stärkekleister
in 65 Minuten	in 85 Minuten	in 105 Minuten	in 165 Minuten

Die Zahlen beweisen, daß die Milchdiastase die Fähigkeit besitzt, Stärkekleister aufzulösen. Da diese Kraft aber schwach ist, so sehen wir auch, daß die Dextrinierung der löslichen Stärke viel rascher als die des Stärkekleisters vor sich geht.

Bestimmung der verzuckernden Kraft und Feststellen der Invertase.

Das Feststellen der stärkelösenden und -dextrinierenden Kraft der Milch führte uns zu der Ansicht, daß in der Milch auch die stärkever-

[1]) *T. Chrząszcz* und *S. Pierozeck*, Zeitschr. f. Spiritus-Ind. 1910.
[2]) *Windisch-Dietrich-Kolbach*, Wochenschr. f. Brauerei **39**, 225, 1924.

zuckernde Kraft vorhanden sei. Die Bestimmung dieser Kraft ist infolge Vorhandenseins großer Milchzuckermengen schwierig. 25 ccm Milch werden mit 2 ccm 1 proz. Stärkelösung versetzt, 2 Stunden bei entsprechender Temperatur gehalten, dann die Diastase mit 5 Tropfen konzentrierter Natronlauge abgetötet, das Casein mittels Kupfersulfat ausgeschieden und nach entsprechender Verdünnung der Zucker nach *Bertrands* Methode mit doppelt verdünntem $KMnO_4$ bestimmt.

Verzuckert	Milch Nr. 1	Milch Nr. 2
allein	8,50 ccm $KMnO_4$	10,60 ccm $KMnO_4$
bei 25°	8,90 " "	10,80 " "
" 30	9,00 " "	10,90 " "
" 35	8,80 " "	—
" 40	8,75 " "	10,80 " "
" 50	8,60 " "	10,70 " "
" 60	8,50 " "	10,55 " "

Die erhaltenen Werte beweisen, daß die Milch, wenn auch nur in geringem Maße, stärkeverzuckernd wirkt, zeigt aber deutlich bei 30° C die günstigste verzuckernde Wirkung.

Gleichzeitig wurden Versuche zur Feststellung der Invertase angestellt. 25 ccm Milch, versetzt mit 2 ccm 4 proz. Saccharose, bei 25 bzw. 50° C 2 Stunden eingewirkt, dann das Casein mittels Kupfersulfats ausgeschieden, verdünnt und wie vorher der Zucker nach *Bertrands* Methode bestimmt.

Milch mit Saccharose		Milch ohne Saccharose
bei 25°	bei 50°	
	Milchprobe Nr. 1.	
6,10 ccm $KMnO_4$	6,00 ccm $KMnO_4$	—
6,10 " "	6,00 " "	6,00 ccm $KMnO_4$
	Milchprobe Nr. 2.	
10,00 ccm $KMnO_4$	—	10,00 ccm $KMnO_4$
10,05 " "	10,05 ccm $KMnO_4$	—
	Michprobe Nr. 3.	
10,65 ccm $KMnO_4$	—	10,60 ccm $KMnO_4$

Auf Grund dieser Versuche können wir annehmen, daß die Invertase in der Milch nicht vorhanden ist. Die kleinen Unterschiede, die wir bei 25 bzw. 50° C und den Kontrollzahlen finden, liegen in Fehlergrenzen bzw. ist hier eine so schwache Wirkung (Einfluß von Bakterienenzymen), die man nicht feststellen kann.

Einfluß der Leucocyten.

Wie schon vorher erwähnt, lenkt *Oppenheimer*[1]) auf den eventuellen Zusammenhang der Milchdiastase mit den Leucocyten hin. Wenn das zutrifft, so müßte die Menge der Leucocyten bzw. ihr Absondern von der Milch, einen Einfluß auf die diastatische Kraft haben. Zur Feststellung wurde Milch abzentrifugiert, der obere leucocytenfreie Teil abgenommen, dann 15 ccm davon mit 2 ccm 1 proz. Stärkelösung versetzt und bei 30° C bis zur Dextrinierung überlassen.

[1]) l. c.

Milch von Kühen	Fettgehalt Proz.	Leucocytengehalt	dextr. 2 ccm 1 proz. Stärkelösung in 60 Min.	bis zur gelben Jodreaktion
die wenig geben	3,7	0,025	grauviolett	in 135 Min.
do. 2. Probe		0,020	"	" 130 "
die viel geben	2,6	0,020	blau	" 180 "
do. 2. Probe		0,025	"	" 185 "
die wenig geben	4,2	0,020	grauviolett	" 115 "
do. 2. Probe		0,020	"	" 120 "
die viel geben	2,85	0,017	blau	" 165 "
do. 2. Probe		0,020	"	" 170 "
die wenig geben	3,6	0,020	grauviolett	" 115 "
do. 2. Probe		Milch direkt (Kontrolle)	"	" 115 "

Die Zahlen zeigen, daß die Leucocytenmenge nur kleine Schwankungen in der Milch aufweist, was man als Fehlergrenze annehmen kann und überhaupt in keinem Zusammenhang mit der Größe der diastatischen Kraft steht. Auch das Absondern der Leucocyten von der Milch oder das Verbleiben bei derselben hat auf die Größe der diastatischen Kraft keinen Einfluß. Diese Beobachtungen zeigen, daß kein Zusammenhang zwischen der Leucocytenmenge und der diastatischen Kraft besteht, und daher müssen wir annehmen, daß dieselbe auch nicht von den Leucocyten abhängig ist.

Einfluß von Natriumchlorid und Blutserum.

Die Untersuchungen von *Wohlgemuth*[1]), *Koga*[2]) und *Hizume* stellten fest, daß der Unterschied der Tierdiastase im Vergleich zur pflanzlichen Diastase darauf beruht, daß erstere durch Einfluß verschiedener Chloride, z. B. Natriumchlorid oder Blutserum, aktiviert wird, was bei der pflanzlichen Amylase nicht der Fall ist. Bei unseren Versuchen haben wir je 25 ccm Milch mit 4 ccm 1 proz. Stärkelösung und verschiedenen Mengen von Natriumchlorid versetzt und bei 30° C den Dextrinierungsverlauf beobachtet.

Milch einer wenig gebenden Kuh + Zusatz von 5 proz. Natriumchlorid	dextr. 4 ccm 1 proz. Stärkelösung bis zur Jodreaktion nach 60 Min.	gelbe Farbe
0,005 ccm = 0,001 Proz.	blau	in 180 Min.
0,05 " = 0,01 "	blauviolett	" 165 "
0,1 " = 0,02 "	"	" 160 "
0,2 " = 0,04 "	violettblau	" 150 "
0,3 " = 0,06 "	violettgrau	" 140 "
0,4 " = 0,08 "	"	" 135 "
0,5 " = 0,10 "	grauviolett	" 130 "
1,0 " = 0,20 "	grau	" 115 "
2,0 " = 0,40 "	"	" 90 "
Milch allein	blau	" 195 "

Ähnliche Versuche haben wir mit Milch einer viel gebenden Kuh, nur mit dem Unterschied angestellt, indem wir 10proz. Natriumchlorid zusetzten.

[1]) *J. Wohlgemuth*, diese Zeitschr. **89**, 303, 1911.
[2]) *T. Koga*, ebendaselbst **141**, 410, 1923.

Milch einer viel gebenden Kuh + Zusatz von 10 proz. Natriumchlorid	dextr. 4 ccm 1 proz. Stärkelösung bis zur Jodreaktion	
	in 60 Min.	gelbe Farbe
0,1 ccm = 0,04 Proz.	blau	in 210 Min.
0,2 „ = 0,08 „	blauviolett	„ 200 „
0,3 „ = 0,12 „	„	„ 195 „
0,4 „ = 0,16 „	violettblau	„ 180 „
0,5 „ = 0,20 „	„	„ 170 „
1,0 „ = 0,40 „	grau	„ 125 „
2,0 „ = 0,80 „	„	„ 135 „
Milch allein	blau	„ 225 „

Diese Zahlen beweisen, daß Natriumchlorid stark fördernd und am günstigsten bei einem 0,3- bis 0,8proz. Zusatze wirkt. Der Zusatz von Natriumchlorid zur Malzdiastase, eingewirkt zu 2 ccm 1proz. Stärkelösung, gab keine Förderung. Die Milchdiastase zeigt sich gleich der tierischen Diastase und nicht wie die der pflanzlichen (Bakterien).

Um den Serumeinfluß festzustellen, haben wir je 25 ccm Milch mit 3 ccm 1proz. Stärkelösung versetzt, bei Zusatz verschiedener Serummengen bei 30° C eingewirkt und die Dextrinierung beobachtet.

Milch	dextriniert 3 ccm 1 proz. Stärkelösung bei 30° bis zur Jodreaktion		
	in 30 Min.	in 60 Min.	vollständig
Durchschnittliche	blau	blauviolett	in 140 Min.
Serum allein	„	blau	blau nach 140 Min.
Milch + 0,1 ccm Serum . .	„	blauviolett	in 150 Min.
„ + 0,5 „ „ . .	blauviolett	grau	„ 120 „
„ + 5,0 „ „ . .	violettblau	hellgrau	„ 90 „
Milch einer wenig gebenden Kuh	blau	grau	in 105 Min.
+ 3 ccm Serum.	blauviolett	hellgrau	„ 80 „
Milch einer viel gebenden Kuh	blau	blauviolett	„ 210 „
+ 3 ccm Serum.	blauviolett	grau	„ 140 „

Der Zusatz von Serum zur Milch aktiviert stark ihre dextrinierende Wirkung, Serum allein hat keinen Einfluß auf die Stärke. Diese Beobachtungen bekräftigen die Ansicht, daß die Milchdiastase tierischer Herkunft ist.

Vergleich der diastatischen Kraft von Kuh-, Ziegen-, Schaf- und *Pferdemilch.*

Die dextrinierende Kraft der Milch verschiedener Tiere zeigt sich ungleich. Nehmen wir die dextrinierende Kraft der Kuhmilch = 100, so verhält sich dieselbe bei den verschiedenen Tieren folgendermaßen:

	25 ccm	100 ccm	Vergleichskraft zur Kuhmilch
	dextrinierten 2 ccm 1proz. Stärkelösung		Proz.
Kuhmilch	in 80 Min.	0,071 g Stärke	100
Schafmilch.	„ 30 „	0,12 g „	170
Ziegenmilch	„ 210 „	0,035 g „	50
Stutenmilch	„ 50 „	0,092 g „	130

Die größte Dextrinierungskraft zeigt Schaf-, die schwächste Ziegenmilch.

Zusammenfassung.

Die Untersuchungen führen uns zu den Schlußfolgerungen:

1. Die Milch zeigt sehr schwach stärkelösende, deutlich verzuckernde und ziemlich stark dextrinierende Kraft.

2. Die günstigste Wasserstoffionenkonzentration ist nicht als feste Größe zu betrachten, dieselbe ist von der Menge der Milchdiastase abhängig und zeigt ein $p_H = 5{,}8$ bis 6,2 bei normaler Milch. Bei Mitwirkung diastasehaltiger Bakterien verschiebt sich die günstigste Wasserstoffionenkonzentration, $p_H = 5{,}0$ bis 5,5.

3. Auch die günstigste Temperatur ist keine feste Größe, sondern von der Diastasemenge abhängig und zeigt sich bei einer Temperatur von 20 bis 40° C. Normale Durchschnittsmilch hat ihr Optimum bei 30° C, Colostrum, als diastasereicher, gibt ein höheres Optimum, 35 bis 45° C.

4. Am meisten Diastase enthält der fetthaltige Teil der Milch, also Rahm, dann Voll- und am wenigsten Magermilch.

5. Je mehr Milch die Kühe geben, und hat dieselbe einen geringen prozentischen Fettgehalt, um so schwächer erweist sich die diastatische Kraft. Dagegen zeigt sich bei Milch wenig gebender Kühe, die aber fettreicher ist, eine große diastatische Wirkung.

6. Die zuletzt ermolkene Milchpartie ist diastasereicher als die vorher und besonders als die erst ermolkene.

7. Frühmilch hat mehr Diastase als Mittagsmilch, am wenigsten die Abendmilch.

8. Die Milch der einzelnen Euterstriche weist keinen sichtbaren Unterschied auf.

9. Die Milch junger Kühe ist diastasereicher als die alter Kühe.

10. Die Verdünnung der Milch und Zusatz antiseptischer Mittel schwächen die diastatische Kraft.

11. Milch hochtragender Kühe und die Milch sofort nach dem Kalben (Colostrum) hat viel mehr Diastase. Besonders viel Diastase zeigt das Colostrum am ersten Tage, dann fällt dieselbe stufenweise, so daß die Milch gewöhnlich am vierten Tage wieder ihren normalen Diastasegehalt aufweist.

12. Dem Tiere gut mundende Nahrung verursacht Diastasesteigerung in der Milch. Bei Grün- oder gemischtem Futter (welches dem Tiere gewöhnlich besser schmeckt) zeigt sich mehr Diastase, bei Trockennahrung dagegen ist dieselbe geringer. Die Diastasemenge in der Milch ist auf die Individualität des Tieres zurückzuführen und hängt mit dem physiologischen Zustande desselben zusammen.

13. Eutererkrankung bzw. Erkrankung der Striche vergrößert die Diastasewirkung der Milch, welche bei Heilung wieder auf den normalen Gehalt zurückkommt.

14. 100 ccm normaler Milch sind imstande, 0,05 bis 0,1 g löslicher Stärke in 60 Minuten bei 30° C zu dextrinieren.

15. Mit dem Casein wird auch Milchdiastase ausgeschieden, so daß in der Molke noch ein kleiner Teil Diastase verbleibt.

16. Eine vollständige Diastaseinaktivierung erfolgt nach 1 Stunde bei 65° C, beim Colostrum dagegen bei 65 bis 70° C. Diese Inaktivierung der Milchdiastase kann auch einen praktischen Wert haben, und zwar das Feststellen, ob und bei welcher Temperatur die Milch pasteurisiert war.

17. Die Invertase kann man in der Milch nicht finden.

18. Die Leucocytenmenge in der Milch, ihre Anwesenheit bzw. ihr Absondern hat keinen Einfluß auf die diastatische Kraft der Milch.

19. Natriumchlorid und Blutserum haben eine stark fördernde Wirkung auf die Milchdiastase, der günstigste Natriumchloridzusatz ist ein 0,3 bis 0,8proz.

Dieses Verhalten der Milchdiastase deutet auf ihre tierische Herkunft. Daß es sich hier nicht um Bakterienwirkung bzw. Bakteriendiastase handelt, beweisen die Punkte 5, 6, 7, 9, 11 und 12.

20. Wenn man die diastatische Kraft der Kuhmilch als Wert = 100 annimmt, so zeigt sich dieselbe bei Kuh-, Schaf-, Ziegen- und Stutenmilch im Verhältnis wie 100 : 170 : 50 : 130.

Die Sensibilisierung durch Albumine und Pseudoglobuline aus normalem und Immunseren.

Von

H. Freundlich und **W. Beck.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Den Anlaß zu diesen Untersuchungen gaben die eigentümlichen Beobachtungen *Reitstötters* (1), nach denen die Pseudoglobuline aus antitoxischen Seren dem Fe_2O_3-Sol gegenüber eine andere sensibilisierende Wirkung ausüben, als die Pseudoglobuline aus normalem oder antiinfektiösem Blutserum. Es ist dies wohl das erste Beispiel, daß sich eine Eigenschaft des Serums, wie sie sich sonst nur auf rein physiologischem Wege zeigen läßt, schon im Reagenzglas mit Hilfe kolloidchemischer Mittel zu erkennen gibt.

Deshalb schien es wichtig, diese Erscheinungen noch einmal genauer zu untersuchen.

Bei unseren Versuchen arbeiteten wir nie mit genuinem Blutserum, sondern nur mit gewissen Proteinfraktionen, dem Serumalbumin und -pseudoglobulin. Die Gewinnung der verschiedenen Fraktionen und ihre Reinigung geschah nach dem elektrodialytischen Verfahren, wie es zuerst von *Dhéré* (2) beschrieben und von *Pauli* (3), *Stern* (4), sowie vor allem von der Elektro-Osmose-Aktienges. (6) ausgebildet worden ist. Im einzelnen verfuhren wir in der von *R. Stern* angegebenen Weise, auch das Pseudoglobulin wurde nach den Angaben dieses Autors gereinigt (4). Der Gehalt aller Eiweißsole wurde kjeldahlometrisch — Mikromethode nach *Bang* (7) — bestimmt. Die Sensibilisierung wurde in der Weise durchgeführt, wie von *Freundlich* und *Brossa* (8) sowie *Reitstötter* angegeben. Die hier auftretenden Erscheinungen werden sehr gut durch die sogenannte „Eisenzahl" charakterisiert. Darunter versteht man den Mittelwert zwischen derjenigen Elektrolytkonzentration in Millimol im Liter, bei der die Mischung gerade noch klar bleibt, und der Elektrolytkonzentration, bei der gerade eine Trübung auftritt.

Die ersten Versuche wurden mit humanen Blutseren ausgeführt, und zwar wurde normales Pseudoglobulin mit dem Pseudoglobulin

aus Diphtherieserum verglichen. Da nur geringe Mengen Blut erhältlich waren, so wurde die Reinigung in einem kleinen Elektrodialysierapparat — wie von *Freundlich* und *Loeb* (9) angegeben — vorgenommen. Die Eiweißkonzentration betrug hierbei 0,09 Proz. Mit diesen Pseudoglobulinsolen wurden Sensibilisierungsversuche ausgeführt. Das Ergebnis war, daß man wohl deutliche Sensibilisierung beobachten kann; da aber der Gehalt an Antitoxin so gering ist, so läßt sich in diesem Falle kein Unterschied zwischen normalem und antitoxischem Pseudoglobulin beobachten. Es bedarf indessen die Frage des Zusammenhanges zwischen Eiweißkonzentration und Sensibilisierungsstärke noch der Aufklärung.

Tabelle I.

Größe der Eisenzahl bei Pseudoglobulin aus humanem Normal- und Diphtherieserum.

Art des Serums	Eisenzahl
Normalserum I	18,75
„ II . . .	18,75
Diphtherieserum I . .	18,75
„ II . . .	18,75
„ III . . .	18,75
Trübungswert rein. Fe_2O_3-Sol . .	75,00

Nachdem sich so herausgestellt hatte, daß man hier wohl aus dem eben erwähnten Grunde keinen Unterschied in der Eisenzahl erhalten konnte, schlossen wir uns in den weiteren Messungen unmittelbar an das Versuchsverfahren von *Reitstötter* (1) an, der mit bedeutend höher konzentrierten Proteinsolen gearbeitet hatte. Wir untersuchten die folgenden Seren:

1. Normal-Pferdeblutserum,
2. Diphtherieheilserum (Pferd),
3. Dysenterieheilserum (Pferd),
4. Tetanusheilserum (Pferd),
5. Schweinerotlaufheilserum (Pferd).

Der Gehalt aller Proteinsole betrug 0,6 Proz. In den nachfolgenden Tabellen sind die Ergebnisse zusammengestellt. Hier findet man die Versuchsprotokolle über die Trübungswerte. Es bedeutet:

— Mischung unverändert,
+ Mischung leicht getrübt,
++ Mischung stark getrübt,
+++ Mischung voll gefällt.

Zum Vergleich sind die Beobachtungen von *Reitstötter* danebengesetzt. Außerdem findet man hier die Konzentration der Eiweißsole

und die p_H-Messungen. Bei diesen Messungen bedienten wir uns der Chinhydronelektrode.

Untersuchung von Normalpferdeserum (Behringwerke). Tag der Blutentnahme 10. Juni 1924. Beginn der Untersuchung am 16. Juni 1924. Diese und alle folgenden Untersuchungen erstreckten sich auf die Dauer von 4 Tagen. Farbe des Serums dunkelgelb, ein wenig trübe, *ohne* Phenolzusatz.

Zu den Zahlen von *Reitstötter* in der Tabelle II muß noch erwähnt werden, daß sie kleiner als unsere sein müssen, da der Koagulationswert seines Soles ebenfalls nur ½ so groß als derjenige unseres Soles war.

Tabelle II.

Pseudoglobulin aus n Pferdeserum; davon 50 ccm 0,6proz. Eiweiß mit 4 ccm 0,6proz. Fe_2O_3-Sol versetzt. $p_H = 6,5$.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von reinem Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3 norm. Pseudoglobulinsol mit NaCl	Dasselbe nach *Reitstötter*
0,195	—	—	ungef. klar
0,391	—	—	„ „
0,781	—	—	„ „
1,50	—	—	„ „
3,13	—	—	„ „
6,25	—	—	trübe
12,5	—	+	„
25	—	++	trübe, Flocken
50	—	++	voll gefällt
100	+++	+	„ „

Wir kommen jetzt zur Untersuchung des „Diphtherieheilserums" (Behringwerke), 1 ccm = 500 A.-E. ohne Phenolzusatz. Tag der Blutentnahme 10. Juni 1924. Beginn der Untersuchung am 19. Juni 1924.

Tabelle III.

Pseudoglobulin aus Diphtherieheilserum, 1 ccm = 500 A.-E., davon 50 ccm 0,6proz. Eiweiß mit 4 ccm 0,6proz. Fe_2O_3-Sol versetzt. $p_H = 6,1$.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-norm. Pseudoglobulinsol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Diphtherie-Pseudoglobulinsol mit NaCl	Dasselbe nach *Reitstötter*
0,195	—	—	—	ungef. klar
0,391	—	—	—	„ „
0,781	—	—	—	„ „
1,50	—	—	—	„ „
3,13	—	—	—	schwach getr.
6,25	—	—	+	trübe, Flocken
12,5	—	+	+	„ „
25	—	++	++	voll gefällt
50	—	++	++	„ „
100	+++	+	+	„ „

Man sieht, daß sich tatsächlich Pseudoglobulin aus normalem, von Pseudoglobulin aus antitoxischem Serum in bezug auf die sensi-

bilisierende Wirkung dem Fe_2O_3-Sol gegenüber unterscheidet. Das aus dem antitoxischen Serum stammende Pseudoglobulin sensibilisiert stärker. Wahrscheinlich würde bei noch höherwertigen Diphtherieseren (1 ccm = 1000 A.-E., 1 ccm = 1500 A.-E.) die Wirkung noch stärker werden. Freilich wissen sie noch nichts Näheres über die Beziehung zwischen Wertigkeit der Sera und Größe der Eisenzahl.

Dysenterieserum (Behringwerke), 1 ccm = 3 A.-E. mit 0,5proz. Carbolsäure versetzt, Farbe bernsteingelb, klar. Serum abgelagert, schon mehrere Jahre alt, Beginn der Untersuchung am 7. Juli 1924.

Tabelle IV.

Pseudoglobulin aus Dysenterieheilserum, 1 ccm = 3 A.-E.; davon 50 ccm 0,6proz. Eiweiß mit 4 ccm 0,6proz. Fe_2O_3-Sol versetzt. $p_H = 6{,}17$.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol. mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-norm. Pseudoglobulinsol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Dysenterie-Pseudoglobulinsol mit NaCl	Dasselbe nach *Reitstötter*
0,195	—	—	—	ungef. klar
0,391	—	—	—	„ „
0,781	—	—	—	„ „
1,50	—	—	—	„ „
3,13	—	—	—	trübe
6,25	—	—	+	„
12,5	—	+	++	voll gefällt
25	—	++	++	„ „
50	—	++	+	„ „
100	+++	+	—	„ „

Wir untersuchten schließlich das von *Reitstötter* als besonders charakteristisch bezeichnete Tetanusheilserum.

Tetanusheilserum (Behringwerke) Nr. 1569, 1 ccm = 6 A.-E. mit 0,5proz. Carbolsäure versetzt, freigegeben am 3. März 1924, Farbe des Serums hellgelb, Beginn der Untersuchung am 15. Juli 1924.

Tabelle V.

Pseudoglobulin aus Tetanusheilserum, 1 ccm = 6 A.-E.; davon 50 ccm 0,6proz. Eiweiß mit 4 ccm 0,6proz. Fe_2O_3-Sol versetzt. $p_H = 6{,}3$.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-norm. Pseudoglobulinsol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Tetanus-Pseudoglobulinsol mit NaCl	Dasselbe nach *Reitstötter*
0,195	—	—	—	ungef. klar
0,391	—	—	—	„ „
0,781	—	—	—	„ „
1,50	—	—	—	trübe
3,13	—	—	+	voll gefällt
6,25	—	—	+	„ „
12,5	—	+	++	„ „
25	—	++	++	„ „
50	—	++	++	„ „
100	+++	+	+	„ „

Als Typus eines antiinfektiösen Serums wurde noch Schweinerotlaufserum untersucht. Rotlaufserum (Behringwerke), Farbe hellgelb, klar, mit 0,5proz. Carbolsäure versetzt, Nr. 109, freigegeben am 14. Juli 1923. Beginn der Untersuchung am 13. September 1924.

Tabelle VI.

Pseudoglobulin aus Rotlaufserum; davon 50 ccm 0,6proz. Eiweiß mit 4 ccm 0,6proz. Fe_2O_3-Sol versetzt. $p_H = 6,24$.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-norm. Pseudoglobulinsol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Rotlauf-Pseudoglobulinsol mit NaCl	Dasselbe nach *Reitstötter*
0,195	—	—	—	ungef. klar
0,391	—	—	—	„ „
0,781	—	—	—	„ „
1,50	—	—	—	„ „
3,13	—	—	—	„ „
6,25	—	—	—	schwach getr.
12,5	—	+	+	voll gefällt
25	—	++	++	„ „
50	—	++	++	„ „
100	+++	+	+	„ „

Wir sehen, daß die Unterschiede in der Sensibilisierungsstärke durchaus an die Gegenwart einer gewissen Menge von Antitoxin geknüpft sind. Antibakterielles Blutserum verhält sich wie normales.

Schließlich wurden noch die Beobachtungen *Reitstötters*, daß sich das Albumin antitoxischer Sera bezüglich der Eisenzahl nicht von dem Albumin aus normalen Sera unterscheidet, nachgeprüft.

Tabelle VII.

Albuminsol aus norm. Pferdeblutserum; davon 50 ccm 0,6proz. Eiweiß mit 4 ccm 0,6proz. Fe_2O_3-Sol versetzt.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von reinem Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Albuminsol mit NaCl
0,195	—	—
0,391	—	—
0,781	—	—
1,50	—	+
3,13	—	+
6,25	—	+
12,5	—	++
25	—	+++
50	—	+
100	+++	—

Die Albumine sensibilisieren Fe_2O_3-Sol ungemein viel stärker als die Pseudoglobuline. Nun wurde Albumin aus Tetanusserum (s. oben) untersucht.

Tabelle VIII.

Albuminsol aus Tetanusheilserum, 1 ccm = 6 A.-E.; davon 50 ccm 0,6proz. Eiweiß mit 4 ccm 0,6proz. Fe_2O_3-Sol versetzt.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von reinem Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-norm. Albuminsol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Tetanus Albuminsol mit NaCl
0,195	—	—	—
0,391	—	—	—
0,781	—	—	—
1,50	—	+	+
3,13	—	++	++
6,25	—	++	+++
12,5	—	++	+++
25	—	++	+++
50	—	++	+
100	+++	—	—

Zwischen Albumin aus normalem und antitoxischem Serum ist also in bezug auf die Sensibilisierung kein merklicher Unterschied.

Tabelle IX gibt eine Übersicht über die gesamten, in diesem Abschnitt gemachten Beobachtungen.

Tabelle IX.

Eiweißkonzentration, Eisenzahl und p_H von Albuminen und Pseudoglobulinen aus Normal- und Immunseren.

Art der Lösung	mg N in 1 ccm	Eiweis Proz.	Verdünnung zur Untersuchung Proz.	p_H	Eisenzahl	Dasselbe nach *Reitstötter*	Wertigkeit der Sera
Rein. Fe_2O_3-Sol	—	—	0,6	—	75,00	37,5	—
Normalalbumin	1,24	0,77	0,6	6,5*)	1,14	0,235	—
Tetanusalbumin	1,10	0,69	0,6	—	1,14	—	1 ccm = 6 A.E.
Normal-Pseudoglobulin	1,08	1,29	0,6	6,2	9,38	4,69	—
Diphtherie-pseudoglobulin	2,56	1,61	0,6	6,1	4,68	2,34	1 ccm = 500 A.E.
Dysenterie-pseudoglobulin	2,00	1,32	0,6	6,17	4,68	2,34	1 ccm = 3 A.E.
Tetanus-pseudoglobulin	2,74	1,67	0,6	6,3	2,34	1,17	1 ccm = 6 A.E.
Rotlauf-pseudoglobulin	1,87	1,17	0,6	6,24	9,38	4,69	—

*) Nach Messungen von *Ruppel* und *Stern*.

Wie man sieht, bestätigen sich die Beobachtungen von *Reitstötter* durchaus, so ist zwischen Normalalbumin und Tetanusserumalbumin kein Unterschied in der Eisenzahl festzustellen, während die Pseudoglobuline aus antitoxischen Seren stärker sensibilisieren, als die Pseudoglobuline aus normalen oder antibakteriellen Seren. Die Tabelle zeigt

ferner, daß man die Unterschiede nicht etwa durch ein verschieden großes p_H erklären kann, da die p_H-Werte für die Pseudoglobuline aus verschiedenen Seren nur zwischen 6,1 und 6,3 schwankert.

Es wurden schließlich noch Versuche angestellt, um zu prüfen, ob etwa die Pseudoglobuline aus Seren verschiedener Tierarten sich verschieden verhielten.

Tabelle X.

Eisenzahl bei Seren verschiedener Tierarten.

Art des Pseudoglobulins	Konzent. des Proteins Proz.	Eisenzahl
Humanpseudoglobulin	0,1	18,75
Rinderpseudoglobulin	0,1	18,75
Hammelpseudoglobulin	0,1	18,75
Schweinepseudoglobulin	0,1	18,75
Pferdepseudoglobulin	0,1	18,75

Man sieht also, daß die Eisenzahlen eine nicht artspezifische Konstante sind.

Da sich die Versuche mit dem Fe_2O_3-Sol — wir benutzten ein in geeigneter Weise elektrodialysiertes Sol — vielfach über eine längere Zeit ausdehnten, war es noch wichtig zu prüfen, welchen Einfluß das Altern des Sols auf die Eisenzahl ausübt. Es zeigt sich, daß das Sol in den ersten 4 Wochen sich etwas ändert, und zwar in dem Sinne, daß der Trübungswert des reinen Sols und die Größe der Eisenzahl etwas ansteigt, d. h. das Sol verlangt zu seiner Koagulation im Laufe der Zeit eine etwas größere Elektrolytmenge. Nach den ersten 4 bis 5 Wochen blieb das Sol praktisch konstant. Die Tabelle XI zeigt den Unterschied zwischen frischem Sol und einem 5 Wochen alten.

Tabelle XI.

Verschiebung der Trübung beim Altern von Fe_2O_3-Sol.

Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl frisch dialysiert	Fällung von Fe_2O_3-Pseudoglobulinsol mit NaCl frisch	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl 5 Wochen alt	Fällung von Fe_2O_3-Pseudoglobulinsol mit NaCl 5 Wochen alt
3,12	—	—	—	—
6,25	—	—	—	—
12,5	—	+	—	—
25	—	++	—	+
50	+	++	—	++
100	+++	++	+++	++

Es muß noch erwähnt werden, daß das bei den oben ausgeführten Versuchen benutzte Fe_2O_3-Sol seinen Trübungswert nicht mehr veränderte.

Die Sensibilisierung an negativen Solen.

Es schien lohnend zu sein, zu prüfen, wieweit man das Fe_2O_3-Sol durch andere Sole bei Sensibilisierungsversuchen ersetzen kann. Einmal um festzustellen, ob es nicht etwa Sole gäbe, welche die oben erwähnten Erscheinungen noch schlagender zeigten als das Fe_2O_3-Sol, und weiterhin zu untersuchen, ob man durchaus mit einem positiven Sol arbeiten muß, oder ob man nicht an negativen Solen ebenfalls Sensibilisierung erreichen kann. Es wurden zunächst, einer Andeutung *Reitstötters* folgend, Versuche mit einem Goldsol angestellt. Durch frühere Untersuchungen von *Zsigmondy* (10) und *Gann* (11) ist bekannt, daß saures Goldsol sehr empfindlich gegen Eiweißstoffe ist; und es bestand die Möglichkeit, daß sich hier vielleicht ähnliche Sensibilisierungserscheinungen aufzeigen ließen wie beim Fe_2O_3-Sol.

Es wurde also in den folgenden Untersuchungen die sogenannte „U-Zahl" festgestellt. Unter U-Zahl versteht *Gann* diejenige Menge Eiweiß in Milligrammen, die den Umschlag von 10 ccm hochroten sauren Goldhydrosols in Blau bzw. Blauviolett noch bewirkt.

Das Goldsol wurde nach der Formolmethode von *Zsigmondy* hergestellt. Dieses Goldsol wurde in ein saures umgewandelt, indem wir nach *Gann* zu 100 ccm Goldhydrosol 4 ccm n/10 HCl unter geeigneten Vorsichtsmaßregeln hinzufließen ließen. Man hat dann ein Sol mit einer $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration von 10^{-3} bis $10^{-3,5}$ Mol im Liter. Erst nach den verschiedensten Vorversuchen gelang es uns, ein solches Sol zu erhalten und die zu früh einsetzende Koagulation zu vermeiden. Man muß bedenken, daß *Gann* mit einem Sol arbeitete, das nach der Phosphor- oder Formolkeimmethode hergestellt worden war. Die Goldteilchen sind hier feiner dispergiert und die Neigung zur Koagulation ist geringer. Die verschiedene Teilchengröße der Sole zeigt sich dann auch in den verschieden großen U-Zahlen von *Gann* und von uns. Bei uns ist, wie erwähnt, die Neigung zur Koagulation größer und die U-Zahl erheblich kleiner.

Was die Bestimmung der U-Zahl selbst anbetrifft, so wurde mit Proteinlösungen gearbeitet, welche die zur Fällung nötige Menge Eiweiß in einem sehr kleinen Volumen enthielten. Wenn man verdünntere Lösungen hat, so sind nach den Beobachtungen von *Gann* bedeutende Schwankungen der U-Zahlen zu konstatieren. Ebenfalls ist im Interesse übereinstimmender Werte sehr wichtig, eine durchaus konstante Zusatzgeschwindigkeit des Proteins zum Goldsol innezuhalten. Aus einer großen Anzahl von Versuchen mögen nur die Protokolle über die Feststellung der U-Zahl von normalem Pferdepseudoglobulin, Diphtherie- und Tetanusspeudoglobulin folgen.

Tabelle XII.

Untersuchung von n Pferdeserum-Pseudoglobulin.

Konzentration des Proteinsols in 100 ccm mg	I Proteinsol zugesetzt zum Goldsol bis rotviolett ccm	II Proteinsol zugesetzt zum Goldsol bis blauviolett ccm	U-Zahl zu I	U-Zahl zu II
1	0,10	0,17	0,0010	0,0017
2	0,05	0,09	0,0010	0,0018
3	0,04	0,06	0,0012	0,0018
4	0,03	0,04	0,0012	0,0016
5	0,02	0,03	0,0010	0,0015

Tabelle XIII.

Untersuchung von Diphtherieserum-Pseudoglobulin.

Konzentration des Proteinsols in 100 ccm mg	I Proteinsol zugesetzt zum Goldsol bis rotviolett ccm	II Proteinsol zugesetzt zum Goldsol bis blauviolett ccm	U-Zahl zu I	U-Zahl zu II
1	0,09	0,17	0,0009	0,0017
2	0,05	0,09	0,0010	0,0018
3	0,03	0,06	0,0009	0,0018
4	0,02	0,04	0,0008	0,0016
5	0,02	0,03	0,0010	0,0016

Tabelle XIV.

Untersuchung von Tetanusserum-Pseudoglobulin.

Konzentration des Proteinsols in 100 ccm mg	I Proteinsol zugesetzt zum Goldsol bis rotviolett ccm	II Proteinsol zugesetzt zum Goldsol bis blauviolett ccm	U-Zahl zu I	U-Zahl zu II
1	0,11	0,16	0,0010	0,0010
2	0,05	0,08	0,0010	0,0010
3	0,03	0,05	0,0009	0,0015
4	0,02	0,04	0,0008	0,0016
5	0,02	0,03	0,0010	0,0015

Das saure Goldsol ist also so empfindlich, daß man schon bei spurenweisem Zusatz von irgend einem Protein eine unmittelbare Koagulation beobachtet. Aus diesem Grunde lassen sich solche Unterscheidungen, wie wir sie beim Fe_2O_3-Sol hatten, hier nicht machen. Die U-Zahlen aller Proteine sind daher gleich groß. Dies zeigt auch Tabelle XV.

Tabelle XV.

U-Zahlen bei Proteinfraktionen aus Seren verschiedener Tierarten und bei normalen und antitoxischen Pseudoglobulinen.

Art des Proteinsols	U-Zahlen
Normal-Rinderalbumin	0,0012—0,0016
„ Hammelpseudoglobulin . . .	0,0011—0,0016
„ Rinderpseudoglobulin . . .	0,0009—0,0015
„ Schweinepseudoglobulin . .	0,0009—0,0012
„ Pferdepseudoglobulin	0,0011—0,0017
Diphtheriepseudoglobulin	0,0009—0,0016
Tetanuspseudoglobulin	0,0009—0,0016
Tetanuseuglobulin	0,0012—0,0010
Albumin ex ovo	0,0009—0,0016

Da wegen der zu großen Empfindlichkeit des Goldsols die Versuche negativ ausfielen, so wurde mit dem etwas weniger empfindlichen, ebenfalls elektrodialytisch gereinigten V_2O_5-Sol gearbeitet. Dasselbe erwies sich indessen für diese Versuche als zu empfindlich.

Es wurde weiterhin mit $Mo_2O_5 . H_2O$-Sol gearbeitet. Der Gehalt der Sole, die nach *Pechard* (12) hergestellt wurden, betrug 0,42 Proz.

Es war angezeigt, so zu arbeiten, daß man zu 30 ccm Mo_2O_5-Sol 1,4 ccm Proteinsol zusetzte, worauf man eine ganz leicht getrübte Lösung erhält. Sonst wurde genau so verfahren, wie beim Fe_2O_3-Sol angegeben. Als Trübungswert bezeichneten wir beim sensibilisierten Sol den Mittelwert zwischen schon von vornherein leicht getrübtem Sol und dem Werte, wo deutlich eine etwas stärkere Trübung statthatte $\left(\frac{+ \text{ plus } ++}{2}\right)$.

Die Tabelle XVI enthält die Trübungswerte für eine Reihe von Kationen, namentlich auch für die lyotrope Folge der Alkalikationen.

Tabelle XVI.

Lyotrope Folge der Kationen bei reinem, sowie durch Serumalbumin sensibilisiertem Mo_2O_5-Sol und die Trübungswerte für $BaCl_2$ und Guanidinsulfat.

Kation	Trübungswert von rein. Mo_2O_5-Sol	Trübungswert von Mo_2O_5-Albuminsol
$Li^{\cdot}$	63	31,5
$Na^{\cdot}$	30	15
$NH_4^{\cdot}$	13	6,5
$K^{\cdot}$	6,2	3
$Rb^{\cdot}$	2,5	1,27
$Cs^{\cdot}$	1,31	0,66
$Ba^{\cdot\cdot}$	0,093	0,046
Guanidinsulfat .	1,668	0,834

Aus diesem Versuch geht hervor, daß auch das negativ geladene Mo_2O_5-Sol durch Serumalbumin sensibilisiert wird. Es braucht dies keinen Widerspruch mit der Theorie zu bedeuten, die die Sensibilisierung als einen Entladungsvorgang auffaßt, denn das amphotere Protein könnte genug Kationen abspalten, um einen entsprechenden Teil der im negativen Sol enthaltenen Mo_2O_5-Micellen zu entladen. Aber nach den Versuchen von *Kruyt* (13) und *Brossa* (14) mit Tannin, bei denen ein sicher nicht amphoterer Körper sowohl negativen wie positiven Solen gegenüber sensibilisierend wirkt, wie auch nach den Beobachtungen *Sterns* bei der Wassermannreaktion, sowie nach eigenen Versuchen über das Verhalten von Lipoiden (15) ist es sehr wohl möglich, daß eine Sensibilisierung noch durch ganz andere Umstände, vor allem wohl durch Dehydratationsvorgänge hervorgerufen werden kann. Die Sensibilisierung ist bei Mo_2O_5-Sol indessen nicht so stark und schlagend, daß sich ein Vergleich des Pseudoglobulins aus normalen und antitoxischen Seren gelohnt hätte.

Zusammenfassung.

1. Die Versuche von *Reitstötter* über die Sensibilisierung von Fe_2O_3-Solen mit Albuminen und Pseudoglobulinen aus normalen, antibakteriellen und antitoxischen Seren wurden wiederholt und bestätigt.

Es ergab sich also, daß sich die Albumine nicht unterschieden. Wohl aber wirkten Pseudoglobuline aus Diphtherie-, Dysenterie- und Tetanusserum stärker sensibilisierend, als das Pseudoglobulin aus Normalserum. Das Pseudoglobulin aus antiinfektiösem Schweinerotlaufserum unterschied sich nicht vom Normalpseudoglobulin.

2. Es gelang, diesen Unterschied nur nachzuweisen, wenn die Pseudoglobuline ziemlich konzentriert waren. Die zu diesen Versuchen verwandten Sole waren 0,6proz. Bei 0,1proz. Solen war eine Sensibilisierung wohl festzustellen, aber kein Unterschied zwischen normal und antitoxisch.

3. Das p_H der zu diesen Versuchen benutzten Pseudoglobuline wurde gemessen; es bewegte sich zwischen 6,1 und 6,3. Die Unterschiede zwischen dem Verhalten der normalen und antitoxischen Pseudoglobuline sind also nicht auf ein verschieden großes p_H zurückzuführen.

4. Es wurden die Pseudoglobuline aus einer Reihe von Tierseren untersucht; sie zeigten alle eine gleich starke Sensibilisierung von Fe_2O_3-Solen.

5. Bei der Koagulation eines schwach sauren Goldsols zeigen die Pseudoglobuline verschiedener Herkunft, namentlich also aus normalen und antitoxischen Seren, keinen Unterschied.

6. Statt des positiven Fe_2O_3-Sols kann man auch das negative $Mo_2O_5 . H_2O$-Sol zur Sensibilisierung verwenden. Es wurde mit Serumalbumin gearbeitet und die Trübungswerte für eine Reihe von Kationen bestimmt.

Bei der Abfassung dieser Arbeit standen uns Mittel zur Verfügung, welche die *Hoshi*-Stiftung als Forschungsbeihilfe bewilligt hatte. Es ist uns ein Bedürfnis, auch an dieser Stelle unserem aufrichtigsten Dank dafür Ausdruck zu geben.

Literatur.

1) *Reitstötter*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie **30**, 507, 768, 1921; Österr. Chem.-Ztg. **5**, 1922; Kolloid-Zeitschr. **28**, 20, 1921. — 2) *Dhéré*, C. r. **150**, 934, 1910. — 3) *Pauli*, diese Zeitschr. **152**, 355, 1924. — 4) *Stern*, ebendaselbst **144**, 115, 1923. — 5) *Ruppel, Ornstein, Carl* und *Lasch*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **97**, 188, 1923; *Ruppel*, Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges. **30**, 314, 1920. — 6) Patente der Elektro-Osmose A.-G. D. R.-P. Anm. E 29 324 IV 1216 v. 18. April 1923. D. R.-P. Nr. 354 327, 1918. D. R.-P. Nr. 355 666 und eine Reihe ausländischer Patente. — 7) *Bang*, Mikromethoden zur Blutuntersuchung. — 8) *Freundlich* und *Brossa*, Zeitschr. f. phys. Chem. **89**, 306, 1914. — 9) *Freundlich* und *Loeb*, diese Zeitschr. **150**, 522, 1924. — 10) *Zsigmondy*, Lehrb. d. Kolloidchem. — 11) *Gann*, Kolloid-Zeitschr. **8**, 252, 1916. — 12) *Freundlich* und *Leonhardt*, Kolloidchem. Beih. **7**, 172, 1915. — 13) *Kruyt*, Kolloid-Zeitschr. **31**, 338, 1922. — 14) *Brossa*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie **32**, 211, 1923; Kolloid-Zeitschr. **32**, 108, 1923. — 15) *Beck*, diese Zeitschr. **156**, 471, 1925.

Versuche über die anaphylaktogene Wirkung kristalloider Substanzen.

II. Mitteilung: Über Ursolanaphylaxie.

Von

Kurt Meyer.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

In einer früheren Mitteilung[1]) haben wir uns dahin ausgesprochen, daß ein Einblick in das noch dunkle Wesen der Idiosynkrasien am ehesten zu erwarten sei, wenn zunächst die Aufklärung der erworbenen Überempfindlichkeitszustände gegen Substanzen von bekannter chemischer Struktur versucht würde.

Wir vermochten einen Beitrag zur Lösung dieses Problems zu liefern, indem es uns gelang, beim Meerschweinchen eine Überempfindlichkeit gegen eine bestimmte chemische Gruppe, nämlich gegen das Atoxyl oder genauer gegen dessen Diazoverbindung zu erzeugen. Allerdings glückte dies nur auf indirektem Wege, indem die Tiere entweder aktiv mit dem Kupplungsprodukt des diazotierten Atoxyls mit Pferdeserum oder besser noch passiv durch das Serum von Kaninchen, die mit diesem Produkt immunisiert waren, sensibilisiert wurden. Die so vorbehandelten Tiere erwiesen sich als überempfindlich nicht nur gegen die gleiche Verbindung, sondern auch gegen das in entsprechender Weise hergestellte Kupplungsprodukt mit Hammelserum. Hieraus ergab sich, daß *die Überempfindlichkeit nicht durch die Eiweißkomponente, sondern durch die chemisch definierte Gruppe, das diazotierte Atoxyl, vermittelt war.* Wir bezeichneten den Zustand daher verallgemeinernd als *Atoxylüberempfindlichkeit.*

Atoxyl selbst löste bei diesen Tieren keine Überempfindlichkeitserscheinungen aus und wirkte auch nicht desensibilisierend.

---

[1]) *Kurt Meyer* und *M. E. Alexander*, diese Zeitschr. **146**, 217, 1924.

Landsteiner[1]), der unmittelbar darauf über schon früher[2]) mitgeteilte, uns unbekannt gebliebene Versuche ganz ähnlicher Art berichtete, kam zu dem gleichen Ergebnis. Auch er fand seine Tiere unempfindlich gegen Atoxyl, außerdem aber bemerkenswerterweise auch gegen die Diazoverbindung von Atoxyl und Tyrosin. Trotzdem wirkte diese Verbindung sowie die Diazoverbindung von Atoxyl und p-Oxybenzoesäure desensibilisierend, woraus der Schluß gezogen werden durfte, daß die anaphylaktischen Antikörper auch mit diesen einfach zusammengesetzten Körpern in Reaktion traten, wenn es dabei auch nicht zur Auslösung anaphylaktischer Symptome kam. Dieser Befund entspricht unserer früheren Beobachtung[3]), daß gegen Bandwurmextrakte überempfindlich gemachte Meerschweinchen durch die acetonunlöslichen Bandwurmlipoide desensibilisiert werden, ohne daß diese anaphylaktische Erscheinungen bei ihnen auszulösen vermögen.

Obwohl es *Landsteiner* und uns gelungen war, eine durch eine bestimmte chemische Gruppe vermittelte Überempfindlichkeit zu erzeugen, so sind diese Versuche doch nicht unmittelbar mit der erworbenen Arzneiüberempfindlichkeit zu vergleichen, denn sowohl zur Sensibilisierung wie zur Auslösung der Symptome mußte jene Gruppe an Eiweiß gekuppelt sein.

Dagegen haben, worauf wir bereits in unserer früheren Mitteilung hinwiesen, *H. Curschmann*[4]) und seine Schüler *Gerdon*[5]) und *Mehl*[6]) über Versuche berichtet, in denen es ihnen gelang, bei Meerschweinchen eine direkte Überempfindlichkeit gegen Ursol=p-Phenylendiamin zu erzeugen.

Gerdon behandelte zunächst Meerschweinchen mit 0,9 bis 2,2 ccm Serum gegen Ursol überempfindliche Personen vor und injizierte ihnen nach 1 bis 3 Tagen intravenös 0,1 ccm einer Ursollösung 1 : 40. Fünf so behandelte Tiere zeigten Zittern, Sträuben der Haare, Kaubewegungen, Urin- und Kotabgang und wesentliche Temperaturerniedrigung. Während vier der Tiere sich erholten, starb das fünfte nach 22 Stunden und zeigte bei der Autopsie unter anderem einen Lungenbefund, der als anaphylaktisch gedeutet werden konnte.

Subkutane Reinjektion des fertigen Reaktionsproduktes — in der Pelzfärberei wird eine mit H_2O_2 versetzte Ursollösung benutzt, die in Berührung mit den Haaren ein schwarzes Oxydationsprodukt liefert — löste unsichere Symptome aus. Inhalationsversuche mit Fellstaub bei passiv vorbehandelten Tieren riefen deutliche anaphylaktische Erscheinungen

[1]) *K. Landsteiner*, Journ. of exper. Med. **39**, 631, 1924.
[2]) *Derselbe*, Verhandl. Kon. Akad. d. Wetensch. Amsterdam **25**, 34, 1922.
[3]) *Kurt Meyer*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **21**, 654, 1914.
[4]) *H. Curschmann*, Münch. med. Wochenschr. 1921, S. 195.
[5]) *C. Gerdon*, Zeitschr. f. Gewerbehyg. **8**, 163, 1920.
[6]) *O. Mehl*, ebendaselbst **9**, 96, 1921.

hervor, zwei Tiere gingen nach 4 bzw. 5 Tagen ein. Die histologischen Befunde sprachen für das Vorliegen einer anaphylaktischen Erkrankung.

Zwei Tiere, die aktiv mit 0,1 g Ursol vorbehandelt waren — das Ursol wurde nicht als solches, sondern im Gemisch mit H_2O_2, d. h. als das hierbei entstehende Oxydationsprodukt Chinondiimin injiziert — erhielten nach 15 bzw. 17 Tagen die gleiche Dosis intravenös: sie zeigten anaphylaxieähnliche Symptome, blieben aber am Leben.

Gerdon glaubte, durch diese Versuche die anaphylaktische Natur des Ursolasthmas bewiesen zu haben, da ihm die Erzeugung sowohl aktiver wie passiver Anaphylaxie beim Meerschweinchen geglückt sei.

Mehl[1]), der die Wirksamkeit der Calciumtherapie bei der experimentellen Ursolüberempfindlichkeit zu prüfen beabsichtigte, suchte sich zuerst von der Richtigkeit der *Gerdon*schen Angaben zu überzeugen. Es gelang ihm, bei einem intravenös und bei einem subkutan vorbehandelten Meerschweinchen durch intravenöse Reinjektion Anaphylaxiesymptome zu erzeugen. Dagegen löste subkutane Reinjektion sowie Inhalation von Fellstaub keinerlei Erscheinungen aus. Ebenso war es nicht möglich, durch Inhalation eine durch intravenöse Injektion oder durch Einatmung nachweisbare Anaphylaxie zu erzeugen.

Soweit das Versuchsmaterial von *Gordon* und *Mehl.* Wenngleich es etwas knapp erscheint, so sind doch die Autoren überzeugt, daß es gelingt, durch Vorbehandlung mit Ursol, also einer Substanz von bekannter chemischer Struktur, beim Meerschweinchen eine Überempfindlichkeit gegen diese Substanz selbst zu erzeugen. Trotz ihrer prinzipiellen Wichtigkeit haben diese mit den sonstigen Erfahrungen im Widerspruch stehenden Versuche, soweit wir die Literatur übersehen, bisher keine Nachprüfung erfahren. Im Rahmen unserer Untersuchungen glaubten wir daher von einer Wiederholung nicht absehen zu dürfen.

Wir benutzten das gleiche Ursol D=p-Phenylendiamin, mit dem jene Autoren gearbeitet haben. Es war uns in liebenswürdigster Weise von der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation überlassen worden. Da uns das Serum an Ursolasthma leidender Patienten nicht zur Verfügung stand, mußten wir uns auf Versuche mit aktiver Anaphylaxie beschränken.

Je zwei Meerschweinchen von 200 bis 250 g Gewicht wurden 2 ccm eines Gemisches gleicher Teile 5proz. Ursollösung und 3proz. Wasserstoffsuperoxyds, das 10 Minuten bei Zimmertemperatur gestanden hatte, subkutan bzw. intravenös eingespritzt. Nach 15 und 21 Tagen erhielt je eins der subkutan und intravenös vorbehandelten Tiere 1 ccm des gleichen Gemisches intravenös. Bei keinem der Tiere waren Krämpfe, Harn- und Kotabgang zu beobachten. Die Temperatur sank bei keinem der Tiere um mehr als ½ Grad.

Die Erzeugung einer aktiven Anaphylaxie durch einfache Vorbehandlung mit Ursol bzw. seinem Oxydationsprodukt war uns somit

---

[1]) *O. Mehl*, a. a. O.

im Gegensatz zu Gerdon und Mehl nicht gelungen. Wenn diese Autoren positive Ergebnisse erzielt haben, so ist daraus zu schließen, daß einstweilen noch unbekannte Bedingungen hierbei eine Rolle gespielt haben müssen.

Nach *Landsteiners* und unseren Erfahrungen durfte man jedoch erwarten, daß es durch Kupplung des p-Phenylendiamins an Eiweiß gelingen würde, eine gruppenspezifische Überempfindlichkeit zu erzeugen. Aber solche Versuche würden den Vorgängen, die wir bei der Entwicklung der menschlichen Ursolüberempfindlichkeit anzunehmen haben, nur unvollkommen entsprechen. Wie wir bereits früher hervorgehoben haben, wird man im lebenden Körper nur mit lockeren Komplexbildungen rechnen dürfen, besonders wenn man berücksichtigt, daß der überempfindliche Organismus auf die Zufuhr der betreffenden Substanz so unmittelbar reagiert, daß kaum Zeit für eine echte chemische Reaktion dieser Substanz mit dem Körpereiweiß, wie sie *Wolff-Eisner*[1]) annahm, gegeben ist.

Wir prüften daher, ob es gelingt, durch Injektion eines einfachen Gemisches von Serum mit dem Ursoloxydationsprodukt eine Ursolüberempfindlichkeit zu erzeugen. Wir durften um so eher auf einen Erfolg rechnen, als es ja *Landsteiner*[2]) gelungen ist, durch Injektion eines Gemisches von Schweineserum mit alkoholischem Extrakt aus Pferdeniere bei Kaninchen heterogenetische Hammelbluthämolysine zu erzeugen, während dies durch Injektion des Extraktes allein nicht möglich ist.

Vier Meerschweinchen erhielten zweimal in Abständen von 7 Tagen subkutan ein Gemisch von 0,1 ccm *Menschenserum* und 2 ccm des oben beschriebenen Ursol-H_2O_2-Gemisches. 3 Wochen nach der zweiten Injektion wurde intravenös 1 ccm Ursol-H_2O_2-Gemisch gegeben. *Bei keinem der Tiere waren Anaphylaxiesymptome zu erkennen.*

Als später durch die Untersuchungen von *Takenomata*[3]) gezeigt wurde, daß gerade dem *Schweineserum* jene von *Landsteiner* entdeckte Wirkung zukommt, während z. B. das Pferdeserum in dieser Beziehung unwirksam ist, wiederholten wir die eben angeführten Versuche unter Verwendung von Schweineserum. Auch diese gleichfalls an vier Meerschweinchen ausgeführten Versuche hatten ein negatives Ergebnis.

Durch unsere bisherigen Versuche halten wir die Unmöglichkeit einer experimentellen Erzeugung von Ursolüberempfindlichkeit keineswegs für bewiesen. Es ist besonders zu berücksichtigen, daß sich auch beim Menschen die Überempfindlichkeit erst nach längerem Arbeiten

---

[1]) *A. Wolff-Eisner*, Dermatol. Centralbl. **10**, 164, 1907.
[2]) *K. Landsteiner*, diese Zeitschr. **119**, 306, 1921; *K. Landsteiner* und *S. Simons*, Journ. of exper. Med. **38**, 127, 1923.
[3]) *N. Takenomata*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **41**, 190, 1924.

mit Ursol entwickelt. Auch im Tierversuch wird man daher von langfristigen Versuchen eher positive Ergebnisse erwarten dürfen. Allerdings stoßen diese wegen der Giftigkeit des Ursols auf Schwierigkeiten. Wir haben daher auch Versuche mit anderen Substanzen begonnen.

Zusammenfassung.

Entgegen den Angaben *Curschmanns* und seiner Schüler gelang es nicht, beim Meerschweinchen eine Überempfindlichkeit gegen Ursol bzw. Chinondiimin zu erzeugen, und zwar weder durch subkutane oder intravenöse Vorbehandlung mit Chinondiimin allein noch mit einem Gemisch von Chinondiimin mit Menschen- oder Schweineserum.

Zur Mikroblutzuckerbestimmung nach Hagedorn und Jensen.

Von

E. Kaufmann.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik Augustahospital, Köln.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Außer *Dresel* und *Rothmann* sowie *Dingemanse* kommen neuerdings auch *Fritz* und *Paul* zu übereinstimmenden Werten für den Blutzucker nach der Methode von *Hagedorn* und *Jensen*, wenn sie das gravimetrische Prinzip (Wägung des Bluttropfens mittels Bangfilters auf der Torsionswage) und das volumetrische Verfahren (Blutvolumenabmessung in Pipetten) verglichen. *Jimenez* und *Cuencas* dagegen erhielten abweichende Resultate. Nach einfacher logischer Überlegung aber müssen die mit gravimetrischer und volumetrischer Methode gefundenen Werte differieren. Das spezifische Gewicht des Blutes schwankt (nach *Naegeli*) zwischen 1050 und 1062 bei Gesunden, kann bei besonderen Krankheiten, z. B. Anämie, bis auf 1030 sinken, im entgegengesetzten Falle bei Polycythämie und Stauungen sogar Werte von 1080 erreichen. Bleiben diese Extremwerte unberücksichtigt, so müssen bereits beim Normalen erkennbare Abweichungen der Blutzuckerwerte besagter beider Methoden erwartet werden, denn 0,1 ccm Blut entsprechen nach dem Gesagten 0,105 bis 0,1062 g, umgekehrt besitzen 100 mg Blut ein Volumen von 0,0952 bis 0,0942 ccm. Da also die Volumeneinheit der Gewichtseinheit nicht gleich ist, müssen die Werte des volumetrischen Verfahrens 5 bis 6,2 Proz. erhöht sein. Inwieweit und ob die Übereinstimmung in den genannten Arbeiten künstlich durch Eindunstung des Tropfens auf dem *Bang*schen Filter vor der Wägung herbeigeführt ist, vermag ich nicht zu entscheiden.

Es ist lediglich eine Sache der Konvention, ob man den Blutzucker „gravimetrisch" oder „volumetrisch", d. h. in Gramm- oder Volumprozenten ausdrückt, mithin schreibt: „Milligramm Glucose in Gramm Blut" oder „Milligramm Glucose in Kubikzentimeter Blut". Das letztere ist, wie in den genannten Arbeiten mit Recht betont wird, einfacher, meines Erachtens auch zweckmäßiger und in der Serologie übliches Verfahren. Die spezifischen Gewichtstabellen der Chemiker für Salzlösungen basieren leider nur auf der

gravimetrischen Berechnung, obwohl die Bestimmungen des molaren Gehalts von Lösungen sich auf Liter beziehen und damit den Kontraktions- und Dilatationsvorgängen beim Lösungsprozeß Rechnung tragen.

Fritz und *Paul* bedienen sich einer besonderen Vorrichtung zur Abmessung des Blutes analog den Angaben von *Ernst* und *Weiss*. Bei Doppel- und Serienbestimmungen braucht man, da die Reinigung immer einige Zeit erfordert, mehrere solcher Vorrichtungen. Aus diesem Grunde dürfte es ratsamer sein, mit Pipetten von 0,1 ccm Inhalt zu arbeiten, die mit der eiweißfällenden Lösung mehrmals zur Entfernung noch anhaftenden Blutes nachgespült werden. Eine Vereinfachung ist lediglich die Verwendung einer Pipette, die bei 0,1 und 6,0 graduiert ist und die Abmessung von Blut und Zinksulfat-Alkaligemisch im Verhältnis 0,1 + 5,9 ermöglicht. Um Gerinnungsbildung und Verstopfen der Pipette zu verhüten, ist die benetzbare Glaswand auf möglichst kleine Fläche reduziert, nur die Teilungsstellen, die die Markierung tragen, sind kapillar, um genaues quantitatives Arbeiten zu gewährleisten (s. Abb. 1). Die Pipette wird zweckmäßig als Auslaufpipette, aus zeittechnischen Gründen als Ausblaspipette konstruiert. Bei schnellem Arbeiten verstopfen die Kapillarteile niemals[1]). Die im Innern geeichter Pipetten noch haftenden Spuren sind äußerst gering und beeinträchtigen, weil sie weit unter dem Fehler der Methodik selbst liegen, in keiner Weise die Resultate. Da mit einer solchen Pipette die Verdünnung in genauem Teilverhältnis 1 : 60 stattfindet, so läßt sich die weitere Ausführung der Zuckerbestimmung in verschiedener Weise durchführen.

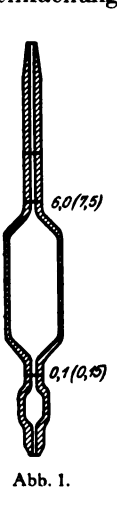


Abb. 1.

1. Man kann den gesamten Pipetteninhalt nach der Originalmethode verarbeiten, wobei jedoch die Auswaschung des Filters mit einer schwachen Verdünnung der benutzten Zinksulfat-Laugemischung zu empfehlen ist, weil dadurch die Garantie der Eiweißfreiheit des Filtrats erhöht wird.

2. Statt der Filtration ist es auch angängig, die Mischung nach Koagulation des Eiweißes im Wasserbade scharf zu zentrifugieren, alsdann von der überstehenden klaren Flüssigkeit 4 ccm auf Glucosegehalt zu verarbeiten. Diese Arbeitsweise hat natürlich, um Verdunstung zu vermeiden, einen guten Verschluß der Gläschen mit Gummistöpsel (bzw. Gummikappen) bis dahin zur Voraussetzung, da sonst die quantitativen Verhältnisse beeinträchtigt werden. Die klare, vom Sediment getrennte Flüssigkeit ist auch bei Anwendung von Zentrifugen mittlerer

[1]) Es besteht natürlich auch kein Hindernis, mit *getrennten Vollpipetten* von 0,1 und 5.9 zu arbeiten, was die größte mögliche Genauigkeit bietet.

Umdrehungszahl, wie der negative Ausfall der Trichloressigsäure- und Sulfosalicylsäureprobe, auch im Vergleich mit dem Leerversuch, zeigte, völlig eiweißfrei. Man muß natürlich ein Aufwirbeln des Sediments vermeiden, was unschwer ist. Bei weiterer Verarbeitung genau im Sinne der Vorschriften von *Hagedorn* und *Jensen* werden die gefundenen Werte zum Schluß noch mit 1,5 multipliziert, da nur zwei Drittel der entnommenen Blutmenge zur Bestimmung gelangen [1]). Diese Rechnung stützt sich darauf, daß eine beträchtliche Adsorption von Glucose an das Sediment, ferner ein Konzentrationsgefälle der letzteren zwischen Lösung und Niederschlag nicht anzunehmen ist. Das Sediment besteht nur zum geringen Teil aus Bluteiweißkörpern [z. B. 0,02 g bei 20 Proz. (!) Eiweißgehalt des Blutes], zur Hauptsache aber aus dem eiweißfällenden Zinkhydroxyd. Dieses stört nach *Hagedorn* und *Jensen* den Gang der Versuche nicht. Wer Wert auf die Bestimmung in 0,1 ccm legt, wird die Pipette in dem Teilverhältnis 0,15 und 7,5 herstellen, benötigt infolgedessen etwas mehr Blut und erspart die Umrechnung des Endresultates.

Die vorstehenden Bemerkungen verfolgen nur die Absicht, kleine Verbesserungen einer verbreiteten und bewährten Methode anzuregen bzw. zur Diskussion zu stellen.

---

[1]) Wodurch auch 50 Proz. oberhalb der Grenze der Methode liegende Blutzuckerwerte, wie sie bei Diabetes nicht selten sind, ermittelt werden können.

Über die Bedeutung des Calciums bei der Salvarsanwirkung.

Von

Josef Schumacher (Berlin).

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Durch die Arbeiten von *Spiethoff* und *Wiesenack*[1]) wurde bekanntlich gezeigt, daß durch intravenöse Vorbehandlung mit Calciumsalzen (Afenil, Optocalcil oder 10proz. Lösung von Calciumchlorid) oder durch Lösen des Salvarsans in derartigen calciumhaltigen Verdünnungsflüssigkeiten eine Toxizitätsherabsetzung des Salvarsans erzielt wurde. Diese günstigen Erfahrungen der genannten Autoren wurden später von *Stümpke*[2]) u. a. bestätigt. Weiterhin haben *Jacobsohn* und *Sklarz*[3]) festgestellt, daß reichere Calciumgaben beim Kaninchen die Toleranz gegenüber dem Salvarsan erhöhen, also eine Toxizitätsherabsetzung stattfindet. Andererseits fanden die Autoren, daß bei Kaninchen die Toxizität minimaler Salvarsandosen durch Kaliumvorbehandlung erhöht wird. Sie glauben die in den Nachkriegsjahren gehäuft auftretenden Salvarsanschädigungen auf die summierende Wirkung des Calciums und Arsens infolge Störung des Ionengleichgewichts zwischen Calcium und Kalium durch calciumarme und kaliumreiche vegetabile Ernährung der letzten Jahre zurückführen zu müssen. *Schlossberger*[4]) weist ferner darauf hin, daß Calciumsalze mit Salvarsan unlösliche Verbindungen geben, worauf die Herabsetzung der Toxizität zum Teil vielleicht beruhen dürfte.

Bei unseren Arbeiten zur Erforschung der Heilwirkung der Umwandlungsprodukte des Salvarsans im Organismus, bei denen wir bekanntlich fanden, daß es dabei zur Entstehung der Salvarsanbase[5]) in vivo kommt, die alsdann von den Parasiten gebunden wird, erkannten wir, daß auch die Gegenwart von Calciumchlorid selbst in kleinen Mengen offenbar dieselben Veränderungen der Salvarsanlösungen hervorzurufen imstande war wie die Kohlensäure der Luft, d. h. einmal trübten sich solche Salvarsanlösungen sofort beim Versetzen mit Calciumchloridlösungen, des weiteren wurde auch aus so behandelten Salvarsan-

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 44, S. 1219; Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 30, S. 845.
[2]) Med. Klin. 1922, Nr. 30, S. 965.
[3]) Ebenda 1921, Nr. 44, S. 132; 1922, Nr. 18, S. 567.
[4]) *Kolle-Zieler*, Handb. d. Salvarsantherapie, I, S. 166.
[5]) Diese Zeitschr. 157, 438.

lösungen jetzt plötzlich das Salvarsan oder ein Umwandlungsprodukt desselben von den *lebenden* Zellen gebunden, während das bei einer intakten alkalisierten Salvarsanlösung nicht der Fall war.

Es war daher die Frage zu entscheiden, ob es beim Versetzen von alkalisierter Altsalvarsanlösung mit Calciumsalzen zur Bildung von *Calcium-Salvarsanverbindungen* kommt, wie das angenommen wird, oder ob es zur *Abscheidung der Salvarsanbase* kommt, wofür unsere Versuche eindeutig zu sprechen schienen. Wir entschieden diese Frage bereits früher[1]) in letzterem Sinne, was wir heute beweisen wollen. Zu diesem Zwecke wurden in

Versuch 1. 0,3 g Altsalvarsan in 300 ccm destillierten Wassers aufgelöst, durch Zugabe der entsprechenden Menge 15proz. Natronlauge (0,57 ccm) in das Dinatriumphenolat übergeführt und dann so lange mit einer 1proz. Lösung von Calciumchlorid versetzt, bis das Filtrat bei weiterem Zusatz von Calciumchlorid keinen Niederschlag mehr fallen ließ. Der restierende Niederschlag wurde alsdann in der Zentrifuge so lange mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser mit Ammoniumoxalat und Zusatz einiger Tropfen Ammoniak keinen Niederschlag von Calciumoxalat mehr gab.

Der so behandelte Niederschlag wurde darauf in der üblichen Weise verascht, in verdünnter Salpetersäure gelöst und mit Ammoniumoxalat und Ammoniak im Überschuß versetzt. Es entstand auch bei längerem Stehen der Flüssigkeit kein Niederschlag mehr von Calciumoxalat. Der ursprüngliche Niederschlag aus Salvarsan und Calciumchloridlösung erhalten, enthielt jedenfalls nach dem Waschen mit destilliertem Wasser *kein Calcium* mehr. Es konnte also nur die freie Salvarsanbase vorliegen, was auch die weiteren chemischen Reaktionen sowie die oben erwähnte Reaktion der starken Lipoproteidlöslichkeit der Calciumsalvarsanfällung zu beweisen schienen.

Es handelte sich nun weiter darum, zu untersuchen, wird das bei der Einwirkung von Calciumchlorid auf Salvarsanlösungen entstehende Calciumphenolat durch das Waschen mit destilliertem Wasser langsam hydrolytisch zersetzt oder entstehen die vermuteten Calciumsalvarsanverbindungen nur intermediär?

In einem weiteren Versuch wurde festzustellen versucht, wie die Verhältnisse genauer liegen.

Das Atomgewicht des Salvarsans $C_{12}H_{12}N_2O_2As_2 \cdot 2\,HCl$ beträgt 439. Das Atomgewicht seines Dinatriumphenolats $C_{12}H_{10}Na_2N_2O_2As_2$ beträgt 410. Das Atomgewicht des Calciumphenolats $C_{12}H_{10}CaN_2O_2As_2$ beträgt 404. Aus 0,3 g Altsalvarsan entstehen demnach 0,280 g Dinatriumphenolat. Das Atomgewicht des wasserfreien $CaCl_2$ ist 111. 410 Natriumphenolat setzen sich mit 111 Calciumchlorid um, 0,280 g Natriumphenolat

[1]) Diese Zeitschr. l. c., S. 453.

daher mit 0,0758 g oder 76 mg. 0,3 g Altsalvarsan gebrauchen demnach 76 mg Calciumchlorid zur quantitativen Fällung. Es wurde nun der Versuch unternommen, zu bestimmen, ob bei der Umsetzung des Salvarsandinatriumphenolats mit dem Calciumchlorid primär das *Calciumphenolat* entsteht oder die *Salvarsanbase*. Im ersteren Falle mußte die von dem Niederschlag abzentrifugierte Lösung calciumfrei sein oder wenigstens nahezu calciumfrei, anderenfalls mußte, wenn die Base entstanden war, die Flüssigkeit stark calciumhaltig sein.

Versuch 2. Es wurden 0,3 g Altsalvarsan in 99,43 ccm Wasser gelöst und 0,57 ccm 15proz. Natronlauge zugegeben. Zu dieser Salvarsanlösung wurden genau 7,6 ccm 1proz. Calciumchlorid (= 76 mg) gegeben. Nach Abzentrifugieren von dem entstandenen Niederschlag wurde die Flüssigkeit aufgehoben. Gleichzeitig wurde eine gleich hoch konzentrierte wässerige Calciumchloridlösung hergestellt durch Vermischen von 100 ccm Wasser ebenfalls mit 7,6 ccm Calciumchlorid. Wurde etwas Ammoniak hinzugegeben und alsdann Ammonoxalatlösung, so entstanden in beiden Fällen gleich starke weiße Niederschläge. Um den Versuch genauer zu gestalten, wurde zu gleichen Mengen der von dem Calcium-Salvarsanniederschlag abzentrifugierten Flüssigkeit und der gleichen Menge ebenso hoch konzentrierten Calciumchloridlösung gleiche Mengen Ammoniak und Ammonoxalatlösung gegeben und zentrifugiert. Die Menge der Niederschläge ist in beiden Fällen dieselbe, nur beobachtet man bei dem Calciumniederschlag der Flüssigkeit, die von dem Calciumsalvarsanniederschlag herrührte, daß sie grau verfärbt ist.

Da gleiche Mengen von Calciumoxalat in beiden Fällen gefunden wurden (während Calciumfreiheit der mit dem Salvarsan in Reaktion getretenen Flüssigkeit erwartet wurde), kann unmöglich in dem mit Calciumchlorid in alkalisierten Salvarsanlösungen entstehenden Niederschlag des Ca-phenolat vorliegen. Wenn man überhaupt die intermediäre Bildung eines Ca-phenolates annehmen will, so wird dieses sicherlich gleich quantitativ hydrolytisch unter Abscheidung der *Salvarsanbase* nach der Gleichung gespalten:

$$H_2N(NaO)C_6H_3-As=As-C_6H_3(ONa)NH_2 + CaCl_2 = H_2N(O)C_6H_3-As=As-C_6H_3(O)NH_2\,[O-Ca-O] + 2\,H_2O + 2\,NaCl$$

$$= H_2N(OH)C_6H_3-As=As-C_6H_3(OH)NH_2 + Ca(OH)_2.$$

Erfolgte die Einwirkung des Calciumchlorids auf das Dinatriumphenolat des Salvarsans bei Gegenwart von Eiweiß, so entstand kein

Niederschlag der Salvarsanbase, sondern diese wurde kolloidal in Lösung gehalten, was man an der auftretenden Opaleszenz erkannte, die die Flüssigkeit dabei annahm. Einfacher noch erklärt sich die Ausfällung der Salvarsanbase aus dem Dinatriumphenolat des Salvarsans durch Calciumsalze dadurch, daß die durch die hydrolytische Spaltung entstehenden Hydroxylionen mit zugefügten Calciumionen zu dem wenig dissoziierten Calciumhydroxyd zusammentreten, wodurch die hydrolytische Spaltung des Diphenolats quantitativ wird und infolgedessen die Salvarsanbase ausfällt. Dadurch wird *diejenige* Periode, in welcher das wasserlösliche Dinatriumphenolat des Salvarsans im Organismus zirkuliert, enorm abgekürzt und diesem dadurch die Möglichkeit entzogen, mit den *nicht lipoidhaltigen* Zellinhaltsstoffen des Organismus (Kerne usw.) in chemische Reaktion zu treten, wodurch *die Toxizität gleichzeitig ebenfalls stark herabgesetzt* wird infolge des sofortigen Auftretens eines nur lipoid- und lipoproteidlöslichen, jetzt aber wasserlöslichen Umwandlungsproduktes des Salvarsans, der *Salvarsanbase*. Hand in Hand mit dieser Toxizitätsherabsetzung erfolgt eine *Beschleunigung* der parasitoziden Wirkung insofern, als diese jetzt *rascher* erfolgen kann, als wenn erst durch die viel langsamere Umwandlung des Dinatriumphenolats durch den Kohlensäuregehalt des Blutes die wirksame Salvarsanbase entstehen kann.

Zusammenfassung.

Es wird der Nachweis geführt, daß in alkalisierten Salvarsanlösungen bei Zusatz von Calciumsalzen nicht Calcium-Salvarsanverbindungen entstehen, sondern daß es dabei zur Ausfällung der freien Salvarsanbase kommt. Der Effekt der Gegenwart von Calciumionen im Blute besteht in einer *Toxizitätsherabsetzung* (infolge der geringeren Umlaufszeit eines wasserlöslichen Salvarsanproduktes im Blute) und einer *Beschleunigung der spirilloziden Wirkung* (infolge des Auftretens eines lipoproteidlöslichen Umwandlungsproduktes, der Salvarsanbase, die im Gegensatz zu dem Dinatriumphenolat mit den Parasiten in chemische Reaktion zu treten vermag).

Über das Verhalten einiger basischer Farbstoffe zu Lipoiden[1].

Von

Josef Schumacher (Berlin).

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Während man früher mit Recht der Ansicht war, daß man aus einer vorgenommenen Zellfärbung keinerlei Rückschlüsse über die chemische Zusammensetzung der gefärbten Zellinhaltsstoffe zu ziehen vermöge, so sind wir nach bereits anderenorts publizierten (1) Tatsachen dazu jetzt wohl in der Lage. Wir konnten dort bereits am Beispiel der Hefezelle zeigen, daß wir durch einfache Behandlung der Hefezelle in der Kälte mit verdünnter Salpetersäure im Verhältnis 1 : 10[2]) ihr alle *sauren* Zellinhaltsstoffe zu entfernen vermögen, mit Ausnahme der *Lipoide* und *Lipoproteide* (2, 3, 4, 6), die wir damals als Verbindungen der *Lipoidsäure* mit einem basischen Eiweiß erkannten. Zellen, die auf die beschriebene Weise mit Salpetersäure nucleinsäure- und karyoninsäurefrei gemacht worden waren, färbten sich damals nur noch mit einer gewissen Gruppe von basischen Farbstoffen, die gerade zu ihrer *makrochemischen* Auffindung führten, nämlich vorwiegend nur noch mit den Farbstoffen der Fuchsinreihe: Viktoriablau, Fuchsin, Gentianaviolett und Malachitgrün, in absteigender Reihenfolge ihrer Lipoidlöslichkeit genannt. Auf diese Weise hatten wir eine Methode in der Hand, um in Zellen, nachdem sie mit Salpetersäure behandelt worden waren, auf *Lipoide* zu fahnden. Wir wollen uns ferner erinnern, daß *wir freie Lipoide* von *Lipoproteiden* dadurch zu unterscheiden vermochten, daß beim Vorliegen von freien Lipoiden die Fuchsinfärbung bei Vorbehandlung der Zelle mit Äther ausbleibt, beim Vorliegen von Lipoproteiden die Färbung mit den Farbstoffen der Fuchsinreihe aber auch noch *nach* der Ätherbehandlung gelang. Beim Vorliegen von Lipoproteiden verschwinden sowohl die Färbung mit Fuchsin, Malachit-

---

[1]) Mitgeteilt in einem Vortrag vor der Berl. Mikrob.-Ges., 17. November 1924; Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Ref. 78, 333 und ebenda Orig. 97/98.

[2]) HNO_3, 65 proz. von *Kahlbaum*, spezifisches Gewicht 1,40.

grün und Gentianaviolett als auch die *Gram*sche Färbung erst dann, wenn wir das vorliegende Lipoproteid durch Behandlung mit Salzsäure-*Alkohol* hydrolysierten, wodurch der frei werdenden, in Wasser unlöslichen Lipoidsäure durch den Alkoholgehalt jetzt gleichfalls Gelegenheit gegeben war, aus der Zelle auszutreten. Diese Tatsache veranlaßte mich, das Verhalten einiger basischer Farbstoffe auf ihr färberisches Verhalten Lipoiden gegenüber in großem zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke wurden je 5 ccm der wässerigen Lösung 1 : 1000 der betreffenden Farbstoffe sowie 10 ccm einer ½proz. Lecithinätherlösung überschichtet, ordentlich aufgeschüttelt und zentrifugiert.

1. Methylenblau, Äther fast ebenso dunkelblau wie wässerige Lösung.
2. Methylgrün, Äther ganz schwach grün, Flüssigkeit methylgrün, dunkler als Äther.
3. Pyronin, Äther etwas schwächer rot gefärbt als die wässerige Lösung.
4. Phosphin (Chrysanilin extra), Äther erheblich dunkler gelb als die wässerige Lösung, diese nur schwach gelb.
5. Fuchsin, Äther ebenso fuchsinrot wie die wässerige Flüssigkeit.
6. Viktoriablau B, alles Viktoriablau im Äther, die wässerige Flüssigkeit fast entfärbt.
7. Gentianaviolett, Äther ebenso violett wie die wässerige Flüssigkeit.
8. Malachitgrün, Äther etwas heller grün als wässerige Flüssigkeit.
9. Thioninblau, Äther schwach hellblau, die wässerige Flüssigkeit viel dunkler blau.
10. Methylenviolett, Äther und wässerige Flüssigkeit nahezu gleich stark violett gefärbt.
11. Nilblauchlorhydrat, Äther und wässerige Lösung tief dunkelblau.
12. Safranin, Äther etwas weniger rot als Wasser.
13. Phosphin 3 R, Äther gelblich, Wasser dunkelgelber.
14. Bismarckbraun, Äther hellbraun, Wasser dunkelbraun.
15. Chrysoidin, Äther hellgelb, Wasser dunkelgelb.
16. Neufuchsin, Äther dunkelrot, Wasser etwas stärker rot.
17. Methylenazur, Äther ebenso blau wie Wasser.
18. Trypaflavin, Äther etwas dunkler gelb als wässerige Flüssigkeit.
19. Argoflavin, Äther etwas dunkler gelb als wässerige Flüssigkeit.
20. Argochrom, Äther hellblau, wässerige Flüssigkeit dunkelblau.
21. Eosin, Äther schwach rötlich, wässerige Flüssigkeit stark rot.
22. Erythrosin, Äther stärker erythrosinrot als wässerige Flüssigkeit.
23. Guineagrün, Äther ganz schwach hellgrün, wässerige Lösung dunkelgrün.
24. Säurefuchsin, Äther absolut farblos, Wasser tiefrot.
25. Alkaliblau 3 B, Äther hellblau, wässerige Flüssigkeit viel dunkler blau.
26. Wasserblau, Äther farblos, Wasser tiefblau.
27. Methylblau, Äther eine Spur hellblau, wässerige Flüssigkeit tiefblau.

28. Diaminblau, Äther farblos, wässerige Flüssigkeit violett.
29. Fuchsinnucleinsaures Natrium[1]), Äther ebenso stark fuchsinrot wie wässerige Flüssigkeit.
30. Viktoriablaunucleinsaures Natrium, Äther tief dunkelblau, wässerige Flüssigkeit hellblau.
31. Pyroninnucleinsaures Natrium, Äther farblos, alles rot in der Flüssigkeit; nach 24 Stunden ist der Äther eine Spur hellrosa geworden.
32. Methylenblaunucleinsaures Natrium, Äther auch nach 24 Stunden absolut farblos, alles blau in der Flüssigkeit, während bei Methylenblau ein großer Teil in den Äther überging.

Aus der Tabelle ersieht man folgendes. Der Lipoidfärber κατ' ἐξοχήν ist das *Viktoriablau*, da hier der Farbstoff *nahezu restlos* in den Lecithinäther übergegangen ist. Hiermit steht in Übereinstimmung der bereits vorher *histochemisch* erhobene Befund, daß das Viktoriablau der beste Lipoidfärber ist, da es die *nucleinsäurefreie*[2]), aber noch lipoproteidhaltige Hefezelle am intensivsten tingiert. Ihm gleichbedeutend oder nur etwas nachstehend ist das Gentianaviolett, dann folgen die Fuchsine und das Malachitgrün. Ein guter Lipoidfärber ist auch Nilblau und

---

[1]) Das farbstoffnucleinsaure Natrium erhält man, wenn man die aus dem Farbsalz und hefenucleinsaurem Natrium frisch ausgefällten Niederschläge der nucleinsauren Farbsalze nach Abzentrifugieren und Weggießen der überstehenden Flüssigkeit in 4proz. (bei Viktoriablau in 8proz.) hefenucleinsauren Natrium löst. Einfacher, wenn man die Löslichkeitsverhältnisse kennt, durch Zusammengießen der entsprechenden Mengen. So liefern 5 ccm 1proz. hefenucleinsaures Na + 20 ccm 1proz. Pyronin das nucleinsaure Pyronin, gleiche Teile 1proz. Pyroninlösung und 4proz. Lösung von hefenucleinsaurem Na eine Lösung von pyroninnucleinsaurem Na.

Die Lösungen des farbstoffnucleinsauren Natriums färben infolge „Nucleinsäureblockierung" Zellkerne *nicht mehr*. Man kann sich die Lösungen auch im Falle des pyronin- oder methylenblaunucleinsauren Natriums ruhig über die Hände gießen, ohne daß eine Färbung eintritt. Dagegen sind die entsprechenden Salze des Fuchsins und des Viktoriablaues zu einer direkten Lipoidfärbung geeignet bei *Gegenwart von Nucleoproteiden*. Beispiel: Streptokokkenhaltiger Eiter. Färbung mit methylenblaunucleinsaurem Na. Leucocytenkerne färben sich nicht infolge Nucleinsäureblockierung, die Streptokokken färben sich nicht, da Methylenblau in ihren Lipoproteiden (Lipoideiweißverbindungen) unlöslich ist. Dagegen sind bei Färbung mit viktoriablaunucleinsaurem Na die Streptokokken infolge ihres Lipoproteidgehalts gefärbt, die Leucocytenkerne aber nicht infolge der vorhandenen Nucleinsäureblockierung. (Isolierte Färbung der Lipoide.) Näheres siehe „Zum Nachweis der Lipoide in Zelle und Gewebe", Vortrag auf dem Mikrobiologenkongreß Frankfurt 1925. Diese Zeitschr. 1926. Auf die Zusammensetzung und die Eigenschaften der „Farbstoffnucleinsäuren" wird hier baldigst noch zurückgekommen.

[2]) Bei Gegenwart von Nucleinsäure kann natürlich aus einer Färbung mit dem Viktoriablausalz nicht auf die Gegenwart von Lipoiden oder Lipoideiweißverbindungen geschlossen werden.

die Akridiniumabkömmlinge, Phosphin, Trypaflavin und Argoflavin, die aber ihrer gelblichen Nuance wegen nur relativ schwach färben und daher praktisch mit den Farbstoffen der Fuchsinreihe nicht konkurrieren können. Ein relativ gut zu nennender Lipoidfärber ist noch das Safranin, hierfür weniger in Betracht kommen Bismarckbraun und Chrysoidin. Alle *sauren* Farbstoffe sind fast ausnahmslos zur Färbung der Lipoide ungeeignet. Lediglich das Alkaliblau 3 B macht eine Ausnahme, indem es als Natriumsalz der *Mono*sulfosäure des Rosanilinblaues noch eine geringe Lipoidlöslichkeit besitzt. Auch Erythrosin ist noch lipoidlöslich. Bei dem Alkaliblau hat die einfache Sulfurierung noch nicht zur völligen Vernichtung der Lipoidlöslichkeit geführt, wohl aber ist diese bei dem *doppelt sulfurierten* Rosanilinblau, dem *Wasserblau,* erloschen. Man erkennt sehr schön an diesem Beispiel, daß die Sulfurierung des Rosanilinblaus und Fuchsins an diesen nicht nur *chemische* Veränderungen setzt, sondern auch *physikalische.* Seine *starke Lipoidlöslichkeit* hat das Fuchsin durch die eingetretene Sulfurierung völlig verloren, wohl das wichtigste Ergebnis dieser Versuchsreihe neben der aufgefundenen Tatsache, daß Viktoriablau am besten die Lipoide färbt. Ferner finden wir die Ätherlöslichkeit der Farbbase oder des Farbsalzes seiner Lipoidlöslichkeit meist parallel gehen[1]).

In einer zweiten Versuchsreihe wurden die Farbstoffe 1 bis 13 ebenfalls in einer Verdünnung von 1 : 1000 und in einer Menge von 5 ccm je mit 10 ccm einer ½proz. *Stearin-*, *Palmitin-* und *Ölsäureätherlösung* versetzt. Die Farbstoffe bleiben restlos in der wässerigen Lösung, nur bei Fuchsin, besonders aber bei Nilblau und dem Viktoriablau, war zu erkennen, daß die rote Farbbase in den Fettsäureäther überging, wie aber auch bei den entsprechenden Kontrollversuchen mit reinem Äther. Ein analoger Versuch mit denselben Farblösungen und einer ½proz. *Cholesterinätherlösung* verläuft, wie bei den Fettsäuren beschrieben, ebenfalls negativ.

Außerdem wurden anhangsweise, im Zusammenhang hiermit stehend, in einem weiteren Versuche gleiche Mengen wässeriger Lösungen von Phenol, salicylsaurem Natrium und phenolsulfosaurem Kalium, nachdem ihnen zuvor bis zur Entstehung der bekannten violetten Färbung etwas

---

[1]) Schon *Ehrlich* beobachtete, daß alle Hirnfarbstoffe ihre das Gehirn färbende Eigenschaft verloren, wenn eine Sulfosäuregruppe in sie eintrat. Die Mehrzahl der Farbstoffe, die ins Gehirn gehen, fand *Ehrlich* auch aus Wasser in Äther übergehend, als Sulfosäuren jedoch nicht. Auch *Overton* erhob schon die gleichen Befunde, ebenso *Eisenberg* (Centralbl. f. Bakt., Abt. I, 71, 420). Jedoch finde ich bis jetzt keinen Hinweis darauf, daß eine Carboxylierung und Monosulfurierung nur die Lipoidlöslichkeit *herabsetzt,* die mehrfache Sulfurierung die Lipoidlöslichkeit dagegen völlig vernichtet. Siehe auch „Zur Chemie der Desinfektion usw.“, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, 970, 98 (im Druck).

Eisenchlorid zugesetzt worden war, mit Lecithinätherlösung geschüttelt. In dem Phenolversuch verschwindet fast momentan die violette Farbe aus der wässerigen Lösung, da das Phenol restlos in den Lecithinäther übergeht, in dem es aber ebenfalls farblos bleibt, während beim salicylsauren Natrium der Äther dunkelviolett, die restierende wässerige Flüssigkeit darunter tief dunkelviolett aussieht. Beim phenolsulfosauren Kalium bleibt der Äther farblos, die wässerige Flüssigkeit tiefviolett. Wenn wir hieraus auch nicht definitiv den Schluß ziehen möchten, daß das Phenol am stärksten lipoidlöslich ist, die Salicylsäure weniger und die Phenolsulfosäure noch weniger, da wir ja einmal ihre Salze verwendet haben, des weiteren der negative Ausfall der Eisenchloridprobe bei dem Lecithinäther des phenolsulfosauren Kaliums nicht für dessen Abwesenheit beweisend wäre, so spricht dieser Versuchsausfall doch sehr für unsere Ansicht. Ferner fanden wir oben bei den Farbstoffversuchen die Lipoidlöslichkeit der Ätherlöslichkeit parallel gehend. Da wir andererseits wissen, daß Phenol sehr leicht in Äther, Salicylsäure etwas weniger gut und Phenolsulfosäure fast gar nicht in Äther sich löst, so dürfen wir auch daraus den Schluß ziehen, daß ihre Lipoidlöslichkeit ihrer Ätherlöslichkeit entspricht, am lipoidlöslichsten also das Phenol ist.

Kehren wir nun zu unseren Farbstoffversuchen zurück, so sehen wir, daß es ebenso wie bei der Färbung der Nucleoproteide und Nucleinsäure in der Zelle auch hier bei der Färbung des Lecithins zur *Salzbildung* zwischen den Säuren des Lecithins und der entsprechenden Farbbase kommt, was dadurch bewiesen wird, daß der Kontrolläther des Viktoriablaues und des Nilblaues nur die *rote* Farbbase enthält, die *Lecithin*ätherlösung aber in beiden Fällen *blau* ist. Ferner erkennt man, daß es zwischen Fettsäuren und Cholesterin und den basischen Farbstoffen *nicht* zu einer Salzbildung wie beim Lecithin kommt. Wir werden die Salzbildung außerdem noch auf eine andere Art in einer weiteren Arbeit beweisen können, indem eine Fuchsinlösung nach Behandlung mit nucleinsäurefrei gemachten, daher nur lipoproteidhaltigen Hefezellen (1) von diesen abzentrifugiert, eine starke Chlorreaktion zeigt.

Zusammenfassung.

Nach Entfernung aller sauren Substanzen aus den Zellen durch Behandlung mit verdünnter Salpetersäure, Salz- oder Schwefelsäure lassen sich die *Lipoide* und *Lipoproteide* isoliert zur Darstellung bringen. Eine makrochemische Untersuchung der Färbbarkeit des Lecithins gab in Übereinstimmung mit vorher an der Zelle erhobenen *histochemischen* Befunden, daß die besten Lipoidfärber die Farbstoffe der Fuchsinreihe sind und das Viktoriablau der Lipoidfärber *κατ' ἐξοχήν* ist. Es erfolgt bei der Färbung eine Salzbildung zwischen der Farbbase einerseits und dem sauren Anteil des Lipoids andererseits, welchen Befund wir ebenfalls bereits histochemisch erhoben hatten, indem wir zeigen konnten, daß sich Hefezellen, mit der wasserunlöslichen

rotviolett aussehenden Viktoriablaubase zusammengebracht, *blau* färben (5). Die hohe Lipoidlöslichkeit des Fuchsins und einiger anderer basischer Farben schwindet bei eintretender Sulfurierung, wird dagegen bei *Mono*sulfurierung und Carboxylierung nur teilweise herabgesetzt.

Literatur.

1) *Schumacher*, Centralbl. f. Bakt., Abt. I Orig. 97 oder 98 (im Druck). — 2) *Derselbe*, ebenda Orig. Abt. I, **98**, 266. — 3) *Derselbe*, ebendaselbst, Abt. I, Ref. **78**, **333**; Chemie der Zelle und Gewebe **12**, 175, 1925. — 4) *Derselbe*, Dermat. Wochenschr. **79**, Nr. 46, 1924. — 5) *Derselbe*, Centralbl. f. Bakt., Abt. I 97/98, vorgetragen vor der Berl. Mikrob.-Ges., 17. November 1924. — 6) *Derselbe*, Dermat. Wochenschr. **79**, 457.

Zur Kinetik der Quellung und Entquellung der Gele.

Von

S. Liepatoff (Moskau).

(Aus dem chemischen Laboratorium vorm. *E. Zündel*, Moskau.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

1. Über die Quellungsvorgänge.

a) Allgemeines.

Noyes und *Whitney*[1]) zeigten, daß die Auflösungsgeschwindigkeit eines molekulardispersen Stoffes folgender Gleichung gehorcht:

$$\frac{dQ}{dt} = K(m - Q),$$

welche nach dem Integrieren die Endform

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{m}{m - Q} \tag{1}$$

annimmt.

Wie bekannt (*F. Hofmeister*, *Wo. Pauli*), gilt diese Gleichung auch für die Quellungsgeschwindigkeit der Gele, wobei die Größe m der Gleichung (1) das Quellungsmaximum, und die Größe Q den Quellungsgrad des Gels im Moment t bedeuten. Bearbeiten wir nach der angeführten Gleichung die Versuchsresultate von *P. v. Schroeder*[2]), die für die Wasseraufnahme der Gelatine gelten, so ergibt sich, daß auch die Wasseraufnahme der Kolloide denselben Gesetzen unterworfen ist.

A. Rackowsky[3]) wendet für die Wasseraufnahme eine kompliziertere Gleichung an:

$$x = a - a_1 l^{-Kt} - a_2 l^{-K_2 t}, \tag{2}$$

die sehr gut alle von ihm untersuchten Fälle der Adsorption des Wassers durch Stärke und Cellulose umfaßt.

Die Existenz mehrerer Konstanten in der Gleichung (2) weist auf die Kompliziertheit des Vorganges der Wasseraufnahme bei Kolloiden und auf

---

[1]) *Noyes* und *Whitney*, Zeitschr. f. phys. Chem. **28**, **689**, **1897**.

[2]) *P. von Schroeder*, ebendaselbst **45**, **112**, **1903**.

[3]) *A. Rackowsky*, Zur Erkenntnis der Adsorption (Moskau) 1913; Kolloid-Zeitschr. **11**, 19, 1912.

das Vorhandensein sekundärer Vorgänge hin, deren Geschwindigkeit aus der Formel (2) berechnet werden kann. Es ist leicht zu zeigen, daß die Formel (1) die Gleichung der Quellungsgeschwindigkeit darstellt; ihre Ungültigkeit für manche Fälle der Quellung oder der Wasseraufnahme bei Gelen wird durch die oben erwähnten sekundären Vorgänge, welche die Geschwindigkeitskonstante der Elementargleichung stören, bedingt.

Bei der Berechnung der Quellungsgeschwindigkeit eines derartigen komplizierten Vorganges ist es durchaus notwendig, einen verbessernden Faktor auch in die Geschwindigkeitskonstante dieses sekundären Vorganges einzuführen.

Wenn man in der Differentialgleichung (1) mit K die Geschwindigkeitskonstante der Quellung und mit K_1 die Geschwindigkeitskonstante in Abhängigkeit von dem sekundären Vorgange bezeichnet, so erhält man folgende Gleichung[1]):

$$\frac{dQ}{dt} = K(m-Q) + K_1 Q = Km - Q(K - K_1).$$

Wird für $K - K_1$ der Ausdruck γK eingesetzt, so ergibt sich

$$Km - \gamma KQ = K(m - \gamma Q),$$

und nach dem Integrieren folgende Endform:

$$\gamma K = \frac{1}{t} \ln \frac{m}{m - \gamma Q}. \tag{3}$$

Diese Gleichung gilt für alle Fälle der Gelquellung, sowohl in Wasser wie auch in allen anderen Dispersionsmitteln. Die Versuche über die Quellung von Leim in reinem Wasser und auch bei Gegenwart von Elektrolyten wurden zum Zwecke der Prüfung dieser zwei Gleichungen (1) und (3) angestellt. Für alle Fälle wurde derselbe Leim angewandt, der aus der besten Leimart hergestellt wurde. Dieser war durch siebentägige Dialyse in fließendem, destilliertem Wasser von den darin enthaltenen löslichen Beimischungen gereinigt worden. Nach der Dialyse behandelte man den Leim auf einem siedenden Wasserbad, goß ihn in Porzellangefäße und trocknete ihn sehr rasch.

Die Bestimmung der Quellungsgröße wurde nach der von *Wo. Ostwald* vorgeschlagenen Methode durchgeführt. Die angegebenen Resultate sind das Mittel von zwei bis drei Bestimmungen.

Nach *F. Hofmeister*[2]) ist die Quellung ein Aufnahmeprozeß irgend einer Flüssigkeit durch einen festen Stoff. Folglich kann man die Wasseraufnahme durch ein Gel in zwei Vorgänge zerlegen[3]):

1. Diffusion des Wassers in dem Gel;
2. seine Adsorption durch das Gel.

Die Quellungsgeschwindigkeit addiert sich aus den Geschwindigkeiten der erwähnten Vorgänge.

In den folgenden Tabellen bedeutet t' die Zeit in Minuten und Q die durch das Gel aufgenommene Wassermenge in der Zeit t', m das Gewicht der trockenen Substanz.

---

[1]) *G. Orlow*, Untersuchungen auf dem Gebiete der Kinetik der chemischen Reaktionen. Charkow 1913.

[2]) *F. Hofmeister*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **27**, 395, 1890.

[3]) Auf den komplizierten Charakter der Quellung weisen hin *A. Rackowsky* (l. c.) und *Wo. Ostwald*, Kolloid-Zeitschr. **23**, 68, 1918.

Tabelle I.

Leim + H_2O, m = 1,0856.

t'	Q	K	t'	Q	K
5	0,6050	0,0045	20	1,6256	0,0041
10	1,0457	0,0043	25	1,8067	0,0037
15	1,3568	0,0040	∼	3,0112	—

In Gegenwart von Elektrolyten (Säuren, Basen und Salzen) muß der Quellungsvorgang einen komplizierteren Verlauf haben, schon aus dem Grunde, weil der Elementarvorgang der Quellung von der sekundären Erscheinung der Diffusion des Elektrolyten und seiner Adsorption (im chemischen Sinne) durch das quellende Gel begleitet wird[1]).

Die erhaltenen Resultate über die Quellung des Leims in n/40 KOH, n/40 HCl ließen sich nicht in die übliche Formel der Quellungsgeschwindigkeit (1) einschließen; es wurde eine plötzliche Vergrößerung oder Verminderung von K mit der Zunahme der Zeit bemerkt.

Tabelle II.

Leim + n/40 KOH, m = 1,1121, γ = 0,85.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
5	0,4984	0,018	20	1,4295	0,017
10	0,8654	0,017	∼	2,2406	—
15	1,1584	0,017			

Tabelle III.

Leim + n/40 HCl, m = 0,9307, γ = 0,7.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
5	0,5529	0,013	20	1,8562	0,013
10	0,9947	0,012	∼	2,9152	—
15	1,4399	0,012			

Tabelle IV.

Leim + n/40 $K_2Cr_2O_7$, m = 0,9686, γ = 0,8.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
7	0,6230	0,017	22	1,4746	0,017
12	0,9962	0,018	27	1,6657	0,018
17	1,2728	0,018	∼	2,0232	—

[1]) Leider stand mir keine Gelatine zur Verfügung; mit dem Leim gelangen mir die Versuche nur bei der Dauer von 40 bis 60 Minuten: 1. war in der Kälte eine Auflösung merkbar; 2. bedeckte sich die Leimoberfläche mit einer Haut eines konzentrierten Soles, die sich während der Befreiung des Gels vom Wasser an das Papier anklebte. In den Versuchen anderer Forscher mit Gelatine hielten die Gleichungen (1) und (3) der Prüfung stand.

Tabelle V.

Leim + n/40 K_3FeCy_6, m = 0,9571, γ = 1,1.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
5	0,5389	0,023	20	1,4682	0,023
10	0,9013	0,022	25	1,6938	0,024
15	1,1816	0,021	~	2,5044	—

Wenn man die Geschwindigkeitskonstante K nach der Formel (1) berechnet, so bemerkt man eine plötzliche Vergrößerung von K; dies weist darauf hin, daß sich die Diffusionsgeschwindigkeit der Konstante K mit der Zeit anscheinend deshalb vergrößert, weil mit der Quellungszunahme auch die Diffusionsgeschwindigkeit zunimmt.

Dies läßt sich leicht durch einen besonderen Versuch zeigen.

Für die Erklärung der Natur eines Quellungsvorganges ist es äußerst wichtig, zu bemerken, daß auch die Diffusionsgeschwindigkeit des Elektrolyten in dem Gel der Formel von *Noyes-Whitney* gehorcht, wenn sie als einziger Vorgang verläuft, und der Gleichung (3), wenn sie von irgendwelchen sekundären Erscheinungen begleitet wird, z. B. von einer chemischen Wechselwirkung, wie dies *Watanabe* studiert hat.

Die gute Gültigkeit der Formel (1) für die Quellung und Diffusion gibt uns Grund zu der Annahme, daß die Kinetik der genannten Vorgänge durch die gleichen Ursachen gefördert wird.

Tabelle VI.

Diffusion von $K_2Cr_2O_7$ durch ein Gelatinegel.

t_{St}	d	K	t_{St}	d	K
1,66	6,0	0,2093	6,16	14,5	0,2012
3,16	10,0	0,2167	~	20,0	—
4,66	13,0	0,2234			

W. Nernst[1]) zeigte im Jahre 1904, daß wir beim Studium der Geschwindigkeit chemischer Reaktionen nicht die Geschwindigkeit der Reaktionen, sondern diejenige des damit verbundenen physikalischen Vorganges, nämlich der Diffusion, messen, und die Diffusionskonstante ist der einzige Faktor, den wir als eine Größe der Reaktionsgeschwindigkeit betrachten. Diese Theorie, die durch vorzügliche experimentelle Untersuchungen *Brunners*[2]) bestätigt worden ist, nimmt also an, daß *die Kinetik der heterogenen Reaktionen hauptsächlich durch Diffusionsvorgänge beherrscht wird.*

Eine vollkommene Analogie haben wir auch bei der Quellung. Darum ist unter der *Quellungsgeschwindigkeit unbedingt diejenige Geschwindigkeit zu verstehen, mit der sich der Ausgleich der Konzentrationen zwischen der inneren und äußeren Oberfläche des Adsorbens vollzieht.*

In wesentlichen Fällen gehorcht aber die Quellungsgeschwindigkeit nicht der Gleichung von *Noyes* und *Whitney*, denn in einem heterogenen System kann die Diffusionsgeschwindigkeit verschiedenen beschleunigenden

[1]) *W. Nernst*, Zeitschr. f. phys. Chem. 47, 52, 1904.

[2]) *E. Brunner*, ebendaselbst 47, 56, 1904.

und verlangsamenden Momenten unterworfen sein, die von mannigfachen Ursachen abhängen können. Weiter führt uns die Diffusionstheorie zu der Schlußfolgerung, daß die Konstante K in der Gleichung

$$\frac{dx}{dt} = K(m - \gamma Q)$$

direkt proportional ist der Diffusionskonstante D und der Geloberfläche S und umgekehrt proportional der Dicke δ des Gels, d. h. dem Diffusionsweg δ. Die Gesamtgleichung der Quellung ist dann

$$\frac{dx}{dt} = \frac{D \cdot S}{\delta} \cdot (m - \gamma Q)$$

oder nach dem Integrieren

$$D = \frac{\delta}{S't} \ln \frac{m}{(m - \gamma Q)} \,. \qquad (4)$$

Wenn wir δ und S kennen, so ist es leicht, D zu berechnen.

b) Der Einfluß der Geldimension auf die Quellung.

Der Zweck der weiteren Versuche war, den Einfluß der verschiedenen Faktoren auf die Quellungsgeschwindigkeit des Leims in Wasser bei Zimmertemperatur (18° C) zu studieren. In die Reihe der Faktoren sind zunächst das Gelgewicht, seine Oberfläche und seine Schichtdicke zu stellen. Es war daher von Interesse, diese Bedingungen zu untersuchen, weil trotz der umfangreichen Literatur über die Frage der Quellung die meisten dieser Faktoren noch ungenügend erforscht worden sind.

F. Hofmeister[1]) hat als erster der Größe des Quellkörpers (d. h. seiner Dicke) Bedeutung beigemessen. Er fand, daß die dünnen Platten das Wasser mit größerer Geschwindigkeit aufnehmen als die dicken, und daß für das Auftreten des Quellungsmaximums eine gewisse Zeit nur aus dem Grunde erforderlich ist, weil das Wasser in die inneren Schichten des Gelatinegels langsamer eindringt. Die vorliegende Untersuchung war bereits beendet, als mir die Arbeit von *Arisz*[2]), der dieselbe Frage wie die genannten Forscher behandelt, zu Gesicht kam. Dieser Autor fand, daß die Kurve der Quellungsgeschwindigkeit mit der Dicke des Gels einem Maximum zustrebt. Sie beträgt 0,5 mm nach 12 Stunden, 1 mm nach 1 Tage und 4 mm nach 2 Tagen. Meine Versuche führten zu analogen Resultaten, die in den folgenden Tabellen wiedergegeben werden.

Versuch 1. Eine Gelplatte mit dem Gewicht $p = 0{,}5984$ g, Breite $b = 24$ mm, Länge $l = 30$ mm und Dicke $d = 0{,}65$ mm wird in ein Gefäß mit $v = 100$ ccm Wasser eingetaucht.

Tabelle VII.

t'	Q	Q/p	K	t'	Q	Q/p	K
5	0,3352	0,5601	0,0310	20	0,8638	1,4435	0,0310
10	0,5562	0,9295	0,0297	∼	1,1323	1,8931	—
15	0,7216	1,2060	0,0295				

[1]) *F. Hofmeister*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **27**, 395, 1890.
[2]) *Arisz*, Kolloidchem. Beih. **7**, 54, 1915.

Nach Beendigung des Versuchs (∼ = 35 Minuten) wurde eine Messung der Länge, Breite und Dicke der Platte vorgenommen; die entsprechenden Werte waren gleich 31 mm, 24 mm und 2,5 mm.

Versuch 2. $p = 0{,}2564$, $l = 30$ mm, $b = 24$ mm, $d = 0{,}3$ mm, $v = 100$ ccm.

Tabelle VIII.

t'	Q	Q/p	K	t'	Q	Q/p	K
5	0,3512	1,3697	0,0434	20	0,7123	2,7781	0,0458
10	0,5143	2,0059	0,0429	∼	0,8428	3,4826	—
15	0,6213	2,4231	0,0368				

Versuch 3. $p = 0{,}4428$, $l = 38$ mm, $b = 28$ mm, $d = 0{,}3$ mm, $v = 100$ ccm.

Tabelle IX.

t'	Q	Q/p	K	t'	Q	Q/p	K
5	0,4800	1,0840	0,0332	20	1,1332	2,5570	0,0305
10	0,7516	1,6975	0,0303	∼	1,4975	3,3820	—
15	0,9515	2,1488	0,0294				

Versuch 4. $p = 0{,}5998$, $l = 47$ mm, $b = 29$ mm, $d = 0{,}32$ mm, $v = 100$ ccm.

Tabelle X.

t'	Q	Q/p	K	t'	Q	Q/p	K
5	0,6231	1,0385	0,0352	20	1,4552	2,4253	0,0328
10	0,9784	1,6307	0,0325	∼	1,8608	3,1064	—
15	1,2297	2,0495	0,0315				

Um ein wirkliches Bild zu erhalten, muß man auch die durch 1 g des Gels aufgenommene Wassermenge berücksichtigen, d. h. die Beziehung Q/p anführen. Vergleichen wir die Größen Q/p in den entsprechenden Tabellen, so können wir daraus ableiten, daß bei dem Quellungsvorgang nicht die Geloberfläche, sondern seine Dicke, d. h. der Diffusionsweg eine wesentliche Rolle spielt. Auf Grund der erhaltenen Ergebnisse kann man auch sagen, daß das Prinzip der ungeheuren Beweglichkeit des Wassers in den Kolloiden, das zuerst von *van Bemmelen*[1]) ausgesprochen wurde, seine große Bedeutung auch für die Quellung beibehält. Die Quellungsgeschwindigkeit hängt nicht von der Oberflächengröße des Gels ab.

c) Der Einfluß der Temperatur auf die Quellungsgeschwindigkeit.

Die Frage des Temperatureinflusses wurde schon von anderen Forschern in bestimmter Weise gelöst. Die Schlußfolgerung, zu der alle, die sich mit dieser Frage beschäftigten, kamen, war die, daß *mit der Steigerung der Temperatur auch die Quellungsgeschwindigkeit erhöht wird.* Der Zweck meiner Versuche war, den Einfluß der Temperatur auf den Verlauf der Quellung, d. h. auf die Konstante K_1 des sekundären

[1]) *J. M. van Bemmelen*, Die Adsorption.

Vorganges, zu ermitteln. Zu meinem Bedauern konnten die Versuche mit dem Leimgel nicht so breit angelegt werden wie diejenigen von *Arisz* bei der Untersuchung des Gelatinegels, da die Quellung des Leims bei 30° von Lösungserscheinungen begleitet wird, und man daher die absolute Größe der Quellung nicht bestimmen kann.

Tabelle XI.

$p = 0{,}8529$, Temperatur = 25° C, $\gamma = 1$.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
5	0,5201	0,0324	20	1,2881	0,0315
10	0,8585	0,0314	$\sim$	1,6678	—
15	1,1125	0,0319			

Tabelle XII.

$p = 0{,}8528$, Temperatur = 4° C, $\gamma = 0{,}87$, $K_1 = 0{,}0021$.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
5	0,2645	0,0214	20	0,7781	0,0209
10	0,4622	0,0195	$\sim$	1,1008	—
15	0,6272	0,0202			

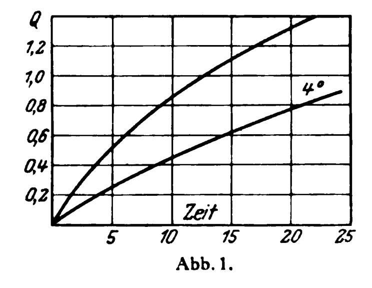


Abb. 1.

Bei der Betrachtung der errechneten Konstanten ergibt sich, daß die Kurve theoretisch (d. h. bei $\gamma = 1$) etwas niedriger als die erhaltene verlaufen muß. Die Konstante K_1 des sekundären Vorganges $= 0{,}0021$ hat eine positive Bedeutung, folglich spielt bei der Temperaturerniedrigung ein sekundärer Vorgang, der die Quellung beschleunigt, eine Rolle.

d) Der Einfluß der Säurekonzentration auf die Quellungsgeschwindigkeit.

In der ersten Mitteilung habe ich darauf hingewiesen, daß der elementare Quellungsvorgang in Anwesenheit von Elektrolyten von dem sekundären Diffusionsvorgang des Elektrolyten und von seiner Adsorption an das Gel begleitet wird. Die angestellten Versuche über den Konzentrationseinfluß des Elektrolyten auf die Quellung haben diese Annahme bestätigt. Die Resultate der Versuche werden in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle XIII.

Leim + n/100 HCl, $p = 0{,}2578$, $\gamma = 0{,}8$.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
5	0,3139	0,0140	20	1,0484	0,0150
10	0,5684	0,0139	$\sim$	1,6834	—
15	0,8141	0,0152			

Tabelle XIV. Leim + n/10 HCl, $p = 0{,}2582$, $\gamma = 1{,}1$.

t'	Q	γK	t'	Q	γK
5	0,5100	0,0434	20	1,1134	0,0425
10	0,7740	0,0396	$\sim$	1,4230	—
15	0,9615	0,0402			

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß die Elektrolyte ihre Konstante der Elementargleichung sehr scharf ändern; bei n/100 HCl vergrößert der sekundäre Vorgang die Quellungsgeschwindigkeit, bei n/10 HCl vermindert der sekundäre Auflösungsvorgang die Quellungsgeschwindigkeit. Die Abnahme der Quellung in Gegenwart von n/10 HCl kann auch in Verbindung mit der Anwesenheit eines Cl'-Ions stehen, da das entstehende Glutinchlorid weniger stark als in reinem Wasser quillt. Eingehender wird darüber weiter unten berichtet werden.

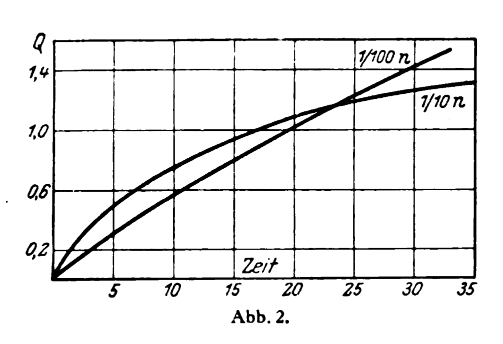


Abb. 2.

e) Über die Natur des Quellungsvorganges.

Die große Bedeutung der Geldimension bei der Quellung ist anscheinend eng mit der peptisierenden Fähigkeit des Gels verknüpft. Eine möglichst dünne Platte würde eine derart große Quellungsgeschwindigkeit aufweisen, daß wir ein Leimsol in Wasser erhalten würden. Daraus ergibt sich, daß in Abhängigkeit von der Größe d auch die Eigenschaften des Gels verändert werden.

Es ist allgemein bekannt, daß der Leim Wasser gegenüber in Analogie zu Gelatine als ein begrenzt quellender Stoff betrachtet werden kann, d. h. als ein Stoff, für welchen eine Grenze der Quellung existiert. Je nach der Vergrößerung von δ werden seine Eigenschaften verändert; bei kleinem δ wird die Kurve der Quellungsgeschwindigkeit mehr der Grenze zustreben als bei größerem δ. Folglich ist die Peptisationsfähigkeit bei einem Gel mit kleinerem δ stärker ausgeprägt, und das Gel mit einem außerordentlich kleinen δ quillt nicht, sondern wird peptisiert. In einem solchen Falle ist wahrscheinlich kein Quellungsmaximum vorhanden. Von diesem Standpunkt aus *ist die Quellung als ein erstes Stadium der Auflösung, eine Umwandlung des Gels in das Sol,* anzusehen.

Für das Gesagte spricht auch der Temperatureinfluß auf die Quellung. Aus Teil c ist zu ersehen, daß der Temperatureinfluß analog der Wirkung der Geldimension ist: bei einer Temperaturerhöhung

strebt die Geschwindigkeitskurve steil nach oben, bei der Temperatur von 30° geht die Geschwindigkeitskurve der Ordinatenachse fast parallel, wie die Versuche von *Arisz* zeigen; bei 35° läßt sich die Quellung wegen der völligen Peptisation des Gels schon nicht mehr untersuchen.

Die erhaltenen Ergebnisse sprechen gewiß für die Peptisationstheorie der Quellung, die von *Wo. Pauli*[1]), *von Weimarn*[2]) *A. Müller*[3]) u. a. verteidigt wird. Gegen diese Theorie sprechen anscheinend die alten Versuche von *Matiessen* und *Schwarz*, welche zeigten, daß im ersten Quellungsstadium die Zusammensetzung des Gels nicht gleichartig ist, daß z. B. die an der Oberfläche gelegenen Schichten viel mehr Wasser enthalten als die inneren. Aber dieser angebliche Widerspruch wird dadurch vollkommen beseitigt, daß der Endzustand des Gels einheitlich ist.

Eine ähnliche Wirkung hat die Konzentration der Elektrolyte auf die Quellung des Leims in Wasser. Aus den Arbeiten von *M. H. Fischer*[4]) ist bekannt, daß die Quellung in Anwesenheit von H^+- und OH^--Ionen vergrößert wird. Um diesen Vorgang zu untersuchen, wollen wir den Quellungsvorgang des Leims in HCl verschiedener Konzentration betrachten (siehe auch die Versuche *Wo. Ostwalds*[5]).

Tabelle XV. Leim + HCl, $p = 0{,}2479$, $t' = 30$ Minuten.

Co	Q	Co	Q
0,01	1,1209	0,20	1,0882
0,03	1,5074	0,30	1,0012
0,05	1,4184	0,40	0,9425
0,10	1,2380		

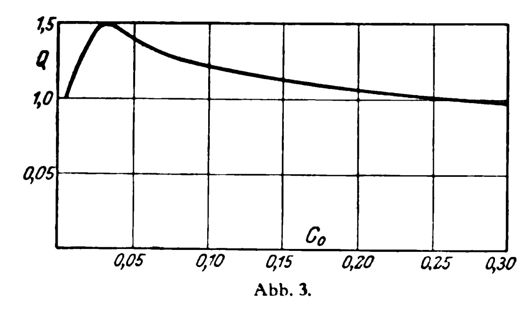


Abb. 3.

Trägt man auf die Abszissenachse die Anfangskonzentrationen der Säure und auf die Ordinatenachse die durch das Gel aufgenommene Wassermenge auf, so wird der Aufnahmevorgang durch folgende Kurve ausgedrückt (siehe Abb. 3). Die Kurve zeigt, daß sich die Quellung in verdünnten Lösungen von HCl verstärkt und ihr Maximum bei 0,03 n HCl erreicht; bei weiterer Konzentrationserhöhung der Säure wird die Quellung sehr vermindert.

Auf diese Erscheinung weisen die Versuche aller Forscher hin, die sich mit dieser Frage beschäftigten, und so muß anscheinend auch die zugehörige Kurve gedeutet werden. In der Tat verhält es sich aber

[1]) *Wo. Pauli*, Ergebn. d. Physiol. III, **1**, 155, 1904.
[2]) *P. P. von Weimarn*, zitiert nach *Janek*, Dispersoidologie.
[3]) *A. Müller*, Allgem. Chem. d. Kolloide, S. 110. Leipzig 1910.
[4]) *M. Fischer*, Nephritis. Moskau 1914.
[5]) *Wo. Ostwald*, Pflügers Arch. **108**, 568, 1905; **111**, 581, 1906.

nicht so, sondern mit der Erhöhung der Säurekonzentration wird auch die Quellung vergrößert.

Allein nach einem bestimmten Zeitverlauf schneiden sich die Kurven für n/100 und n/10 HCl (s. Abb. 2), indem sich die Kurve für n/100 HCl immer mehr von der Abszissenachse entfernt, während die Kurve für n/10 HCl sich immer mehr der Abszissenachse nähert. Also erst im Laufe der Zeit treten irgendwelche Kräfte auf, welche die normale Wasseraufnahme durch das Gel verhindern. Um die Charakteristik dieses Vorganges näher zu erforschen, ist es notwendig, das Resultat der gegenseitigen Wirkung der Säure und des Leim- oder Gelatinegels zu kennen.

Der Aufnahmevorgang der Säuren durch Leim ist eine chemische Sorption, eine chemische Reaktion, als deren Resultat eine Verbindung von wechselnder Zusammensetzung nur infolge Hydrolyse entsteht.

Die sich bildende neue Verbindung Glutinchlorid ist ein Kolloid, aber seine Peptisierbarkeit ist größer als diejenige reiner Gelatine. Somit kann man die Quellungsverminderung bei Konzentrationserhöhung der Säure auf zweierlei Art und Weise erklären:

1. durch die Auflösung des entstehenden Glutinchlorids, oder
2. durch die Anwesenheit des gleichen Cl'-Anions.

Der Versuch bestätigt vollkommen die erste Erklärungsweise, d. h. die angebliche Quellungsverminderung wird durch die Auflösung des Gels verursacht. Folglich *sinkt die Kurve nur infolge des Eintretens eines sekundären Vorganges — der Auflösung*; *theoretisch muß die Gelquellung* auch mit der Konzentrationsvergrößerung von HCl zunehmen.

2. Über die Entquellungsvorgänge.

Soweit mir bekannt ist, haben die meisten Forscher der Entwässerung der Gele über einer H_2SO_4-Lösung eine besondere Beachtung gewidmet. Mir schien es von Interesse, die Entquellung der gequollenen Gele in Alkohol und anderen Medien zu untersuchen.

Die Anfangsversuche zeigten, daß die Entquellungsgeschwindigkeit im Anfangsstadium groß ist; in den ersten Minuten verliert das Gel besonders leicht Wasser, in der folgenden Zeit verläuft diese Wasserabgabe langsamer und das Gleichgewicht mit dem umgebenden Medium stellt sich sehr langsam ein.

Ich habe versucht, in dem erwähnten Falle die Gleichung der bimolekularen Reaktionen[1]) anzuwenden, und habe sehr gute Resultate erhalten. Bezeichnet man mit a den Anfangsgehalt des Wassers im Gel, mit E die Wassermenge, die das gequollene Gel in der Zeit $t\sim$ abzugeben imstande ist, und mit Z die Wassermenge, die das Gel im Zeitverlauf t'

[1]) Wenn man nur die Größe Z in Betracht zieht, so kann man die Gleichung (1) oder (3) anwenden.

abgibt, so ist leicht zu ersehen, daß die genannten Größen in folgender Beziehung zueinander stehen:

$$K = \frac{1}{(a - E)\,t} \ln \frac{(a - Z)\,E}{(E - Z)\,a}. \qquad (5)$$

Diese Gleichung muß man als die Elementargleichung der Entquellungsgeschwindigkeit der Gele bezeichnen.

Bei der Entquellung eines Gels haben wir es anscheinend mit folgenden zwei Vorgängen zu tun:

1. mit der Diffusionsgeschwindigkeit des Wassers aus den inneren Schichten des Gels in die äußeren;

2. mit der Diffusionsgeschwindigkeit des Wassers in dem das Gel umgebenden Dispersionsmittel.

Die Formel (5) schließt aber diese Erscheinung nicht völlig ein, und in manchen Fällen erweist sich eine andere Formel als besser gültig:

$$\gamma K = \frac{1}{(a - E)\,t} \ln \frac{(a - \gamma Z)\,E}{(E - \gamma Z)\,a}.$$

Die Tabellen XVI und XVII und die Kurven zeigen deutlich die Gültigkeit dieser Gleichungen.

Tabelle XVI. Entquellung in 40proz. CH_2O, $p = 0{,}8868$, $a = 3{,}1261$.

t'	$a - Z$	Z	$K \cdot 10^{-5}$	t'	$a - Z$	Z	$K \cdot 10^{-5}$
5	2,8264	0,2977	148	20	2,5244	0,6017	128
10	2,6795	0,4466	137	$\sim$	2,3744	0,7517	—
15	2,5844	0,5417	129				

Tabelle XVII. Entquellung in CH_3OH, $p = 0{,}8921$, $a = 2{,}2692$.

t'	$a - Z$	Z	K	$\gamma K \cdot 10^{-4}$
5	1,5198	0,7494	0,1228	28
10	1,2342	1,0350	0,1003	27
15	1,0392	1,2300	0,0909	28
20	0,9138	1,3554	0,0922	29
25	0,8291	1,4401	0,0851	29
$\sim$	0,6337	1,6355	—	—

Es ist nicht schwer zu sehen, daß der Entquellungsvorgang in den ersten Minuten besonders ungestört und groß ist. Es erhebt sich nun die Frage, ob die spätere Verlangsamung nicht ein Resultat der Wasserzufuhr zu dem Alkohol aus dem Gel ist, also eine Verminderung seiner Aktivität als Entquellungsmittel.

Auf andere Weise können wir den Entquellungsvorgang schematisch folgendermaßen entwickeln:

$$\text{Gel n } H_2O + C_2H_5OH = \text{Gel } 1\,\text{n } H_2O + C_2H_5OH \cdot H_2O.$$

Der Vorgang verläuft nicht bis zum Ende, nach einem bestimmten Zeitpunkt stellt sich ein Gleichgewicht ein. Es entsteht nun die Frage, wie sich der Vorgang abspielen wird, wenn man das aus dem Gel übergegangene Wasser entfernt, indem man das Gel in frischen Alkohol derselben Anfangskonzentration bringt. Die Resultate dieses Versuchs sind aus der Tabelle XVIII und der Kurve zu ersehen.

Tabelle XVIII.

$p = 0{,}8921, \quad a = 3{,}3815.$

t	$a - Z$	Z	t	$a - Z$	Z
5	2,2890	1,0925	15	1,6446	1,7369
10	1,9059	1,4756	∼	1,4698	1,9117

Es ist nicht schwer zu ersehen, daß die Alkoholverdünnung mit Wasser einen sehr geringen Einfluß auf den Kurvenverlauf hat, also der Satz bestehen bleibt, daß die Geschwindigkeit der Entquellung in den ersten Minuten am größten ist.

Einen größeren Einfluß hat eine bedeutende Anfangsverdünnung des Alkohols, wie es aus den Tabellen XIX und XX und Abb. 4 ersichtlich ist.

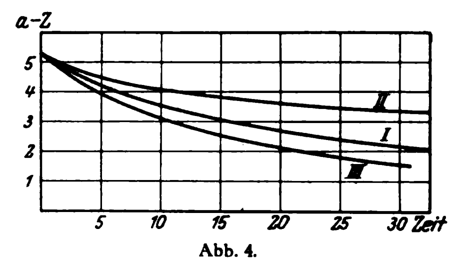


Abb. 4.

Tabelle XIX.

Gel + 96proz. C_2H_5OH (s. Abb. 4, Kurve I), $p = 0{,}5139$, $a = 5{,}2582$.

t'	$a - Z$	Z	$K \cdot 10^{-5}$	t'	$a - Z$	Z	$K \cdot 10^{-5}$
6	3,9984	1,2598	65	21	2,7302	2,5280	61
11	3,4102	1,8480	65	26	2,4740	2,7842	65
16	3,0124	2,2458	64	∼	1,5179	3,7403	—

Tabelle XX.

Gel + 48proz. C_2H_5OH (s. Abb. 4, Kurve II), $p = 0{,}4977$, $a = 5{,}0907$, $\gamma = 1{,}2$.

t	$a - Z$	Z	$\gamma K \cdot 10^{-5}$	t	$a - Z$	Z	$\gamma K \cdot 10^{-5}$
5	4,4444	0,6463	92	20	3,1260	1,3647	89
10	4,1427	0,9480	83	25	3.5803	1,5104	95
15	3,9039	1,1868	87	∼	3,0839	2,0068	—

Bei der Entquellung des Gels durch Alkohol besteht an den gegenseitigen Grenzflächen in jedem Augenblick die Sättigungskonzentration. Beim Rühren des Systems Gel + C_2H_5OH müßte die das Gel umgebende Wasserschicht, wenn schon nicht ganz entfernt, so doch vermindert und damit auch der Diffusionsweg verkürzt werden.

Um diese Annahme zu prüfen, wurde ein Entquellungsversuch des Gels in Alkohol unter ständigem Rühren angestellt (s. Abb. 4, Kurve III und Tabelle XXI).

Tabelle XXI. Gel + 96proz. C_2H_5OH, $p = 0{,}5003$, $a = 5{,}3160$, $\gamma = 0{,}8$.

t	$a - Z$	Z	$\gamma K \cdot 10^{-5}$	t	$a - Z$	Z	$\gamma K \cdot 10^{-5}$
5	3,8904	1,4256	65	20	2,2212	3,0948	61
10	3,2017	2,1143	61	∼	1,5326	3,7834	—
15	2,6094	2,7066	60				

Der Versuch zeigt, daß tatsächlich beim Rühren eine größere Geschwindigkeit in der Entquellung des Gels bewirkt wird; die Kurve fällt steiler. Die Regel von der größten Entquellung in den ersten Minuten behält auch hier ihre Geltung.

8. Andere biochemische Vorgänge, die der Formel (8) gehorchen.

Zum Schluß möchte ich noch bemerken, daß die angenommene kinetische Gleichung zahlreiche biochemische Vorgänge umfaßt und viel umfassender die dabei sich abspielenden Vorgänge charakterisiert. Als Beispiel sei folgendes angeführt:

Beim Studium der Spaltung des Glycin-l-leucins fand *R. Kuhn*[1]), daß die Geschwindigkeit des Vorganges der Gleichung von *Noyes-Whitney* nicht gehorcht, sondern daß in Abhängigkeit vom p_H ganz verschiedene Kurven erhalten werden. Unter Heranziehung der Adsorptionstheorie benutzte er dann eine empirische Formel

$$\frac{dx}{dt} = K\,(a - x)^{1/n},$$

die keine guten Resultate für alle p_H gab. Ich suchte für die Ergebnisse von *Kuhn* die Gleichung

$$\frac{dx}{dt} = K\,(a - \gamma x)$$

anzuwenden und erreichte damit einen sehr guten Erfolg. Es folgen die Berechnungen, die ich für $p_H = 6{,}27$ und $p_H = 8{,}81$ ausgeführt habe.

Tabelle XXII. $\gamma = 0{,}6$. $p_H = 6{,}27$.

t	x	K	$K = \frac{1}{t}\left(\sqrt{a} - \sqrt{a - x}\right)$	γK
10	0,0105	183,9	0,22	0,46
20	0,0224	221,9	0,25	0,52
30	0,0299	216,9	0,23	0,49
40	0,0380	234,2	0,23	0,52
∼	0,0625	—	—	—

[1]) *R. Kuhn*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **125**, 44, 1923; zitiert nach *A. Fodor*, Dispersoidchemie 1925, S. 264.

Tabelle XXIII. $\gamma = 1{,}2.$ $p_H = 8{,}81.$

t	x	K	$2K = \frac{1}{t}\left(\frac{1}{\sqrt{a-x}} - \frac{1}{\sqrt{a}}\right)$	γK
10	0,0177	332,4	0,0725	0,0179
20	0,0297	322,4	0,0766	0,0183
30	0,0308	296,2	0,0746	0,0129
40	0,0414	274,4	0,0721	0,0172
∾	0,0625	—	—	—

Die Konstante ist, wie ersichtlich, völlig genügend, und die Schwankungen hängen von der Ungenauigkeit unserer Methoden ab, da die Punkte für x nicht ganz richtig liegen. Wir sehen also, daß man in Abhängigkeit vom p_H sowohl die Beschleunigung als auch die Verlangsamung des Spaltungsvorganges beobachten kann.

Zusammenfassung.

1. Für die Quellungsgeschwindigkeit gilt die Formel

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{m}{m - Q}$$

nur dann, wenn der Vorgang allein verläuft. Wird die Quellung von irgend einem sekundären Vorgang begleitet, so ist es besser, die Gleichung

$$\gamma K = \frac{1}{t} \ln \frac{m}{m - \gamma Q}$$

anzuwenden.

2. Die Quellungsgeschwindigkeit ist eine Funktion der Dicke des Gels (δ); die Geloberfläche und sein Gewicht spielen eine sekundäre Rolle.

3. Das Prinzip *van Bemmelens* läßt sich auf die Quellung anwenden.

4. Stark beeinflußt wird die Quellungsgeschwindigkeit auch durch die Temperaturbedingungen und die Anwesenheit von Elektrolyten.

5. Als Ursache für den Quellungsvorgang kann man die Peptisation bezeichnen.

6. Entquellungsvorgänge der Gele verlaufen in Alkohol kontinuierlich, und ihre Geschwindigkeit wird durch die Formel

$$K = \frac{1}{(a - E)t} \ln \frac{(a - Z)E}{(E - Z)a}$$

ausgedrückt oder durch eine kompliziertere Formel

$$\gamma K = \frac{1}{(a - E)t} \ln \frac{(a - \gamma Z)E}{(E - \gamma Z)a}$$

7. Die Formel (3) diente auch für andere biochemische Prozesse, wie z. B. für die Spaltung der Fermente.

Über die Abhängigkeit der alkoholischen Gärung von der Wasserstoffionenkonzentration. II.

Von

Erik Hägglund und **Ann-Marie Augustson.**

(Aus dem chemischen Institut der Akademie zu Abo, Finnland.)

(Eingegangen am 6. Oktober 1925.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

In einer vorhergehenden Arbeit[1]) haben wir durch Messung der Kohlensäureentwicklung die Geschwindigkeit der Gärung der *lebenden Hefe* bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration unter wechselnden Bedingungen studiert. Es stellte sich dabei heraus, daß das Gärungsoptimum in erheblichem Grade von der Art der Säure, Zuckerart und dem Zeitpunkt der Beobachtung abhängig war. Bei Anwesenheit von Säuren, wie Milchsäure, Phosphorsäure und Brenztraubensäure, konnten wir deutlich feststellen, daß die höchste Gärtätigkeit in der ersten halben Stunde bei $p_H = 4{,}5$ eintrat, wobei der Gäransatz 0,5 g frische Hefe auf 20 ccm Substrat betrug. Es ging aber aus den Versuchen mit Phosphorsäure hervor, daß im Laufe der Zeit eine Verschiebung des Optimums nach der alkalischen Seite eintrat. So betrug nach 2 Stunden Gärung das Gärungsoptimum in dem Falle $p_H = \sim 6$. Bei Anwendung von Säuren, wie Milchsäure und Brenztraubensäure, trat keine solche Verschiebung des Optimums ein. Was die Wirkung der Essigsäure, die ebenfalls untersucht wurde, betrifft, zeigte sich auffallenderweise, daß das Optimum in dem Falle gleich von vornherein sich auf $p_H = 5{,}5$ bis 6 einstellte.

Es war nun von größter Wichtigkeit, die Ursachen des verschiedenen Verhaltens der Säuren näher zu erforschen. Es erschien uns am nächstliegenden, anzunehmen, daß die Abweichungen auf verschiedene Permeabilität der Hefezellen gegenüber den verschiedenen Säuren zurückgeführt werden könnte.

Um weiter zu kommen, studierten wir also die Gärungsgeschwindigkeit der Hefe, nachdem sie einer Trocknung unterworfen worden war,

[1]) Diese Zeitschr. 155, 334, 1925.

wobei auch hier die *Kohlensäureentwicklung* als Maß der betreffenden Geschwindigkeit betrachtet wurde. Die Richtigkeit dieser Annahme gilt, wie wir stark hervorheben wollen, nur unter der Voraussetzung, daß der Abbau nach der klassischen Gärungsgleichung erfolgt. Das ist bei dem hier in Frage kommenden Aciditätsbereich unter den angegebenen Versuchsbedingungen praktisch genommen auch der Fall.

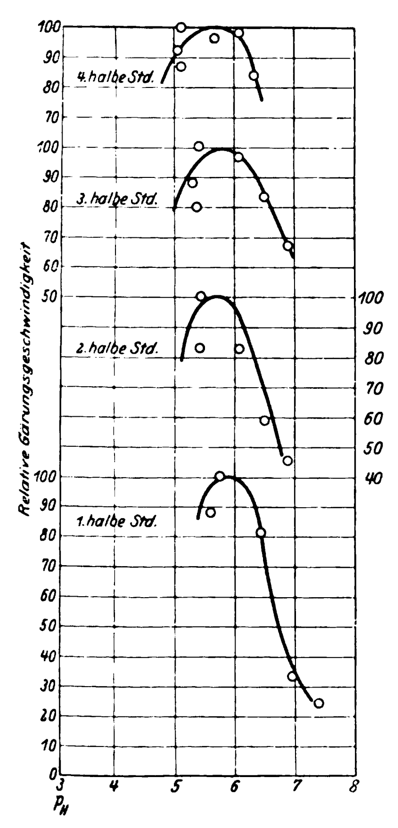


Abb. 1. Vergärung einer 5 proz. Glucoselösung mit 0,15 m. Phosphat. 1 g Trockenhefe R. H˙-Ionenkonzentration im Anfang und nach der 4. halben Stunde gemessen. p_H für 2. und 3. halbe Stunde als Mittel aus den erstgenannten Zahlen gemessen.

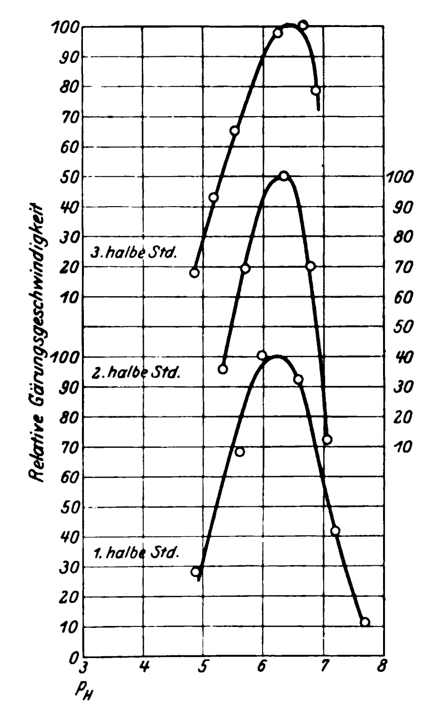


Abb. 2. Vergärung von 5 proz. Maltoselösung mit 0,15 m. Phosphat. 1 g Trockenhefe R auf 20 ccm Lösung. H˙-Ionenkonzentration im Anfang, mit 2. und 3. halben Stunde gemessen.

Die Trockenhefe bereiteten wir in der üblichen Weise aus derselben Brennereioberhefe, deren Wirkung in frisch abgepreßtem Zustande wir in der ersten Mitteilung angegeben haben.

Wir untersuchten die folgenden Säuren in Puffermischungen: Phosphorsäure, Milchsäure und Essigsäure unter Verwendung von Glucose und Maltose als Gärungssubstrat.

Was zunächst die Phosphorsäure betrifft, so ergibt sich, daß das Optimum der Vergärung bei $p_H = 6{,}0 \pm 0{,}2$ liegt, wobei zu bemerken ist, daß das betreffende Optimum sich *gleich im Anfang der Gärung* einstellt. In den Diagrammen (Abb. 1) sind die p_H-Werte, welche in dem Gärungssubstrat in der ersten und vierten halben Stunde herrschten, elektrometrisch bestimmt, während die für die

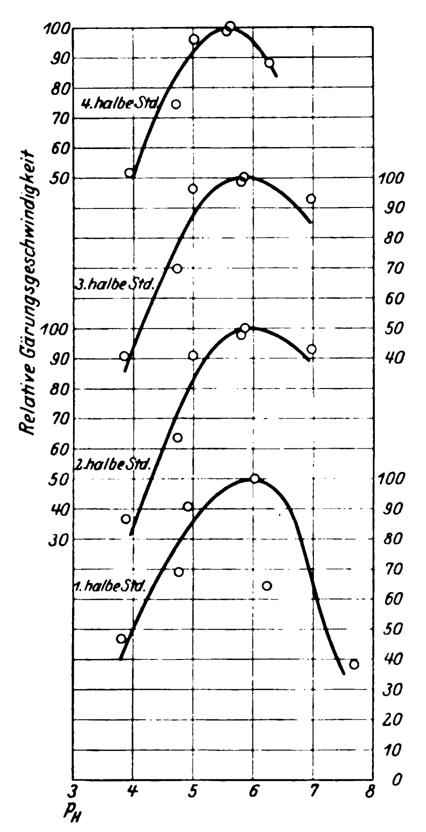


Abb 3. Vergärung einer 5proz. Glucoselösung mit 0,15 m. Milchsäure-Na-Lactat. 1 g Trockenhefe R auf 20 ccm Lösung. Die H-Ionenkonzentration bei der 1. und nach der 4. halben Stunde gemessen. Für die 2. und 3. halbe Stunde sind die H'-Ionenkonzentrationen Mittel aus den beiden ersten.

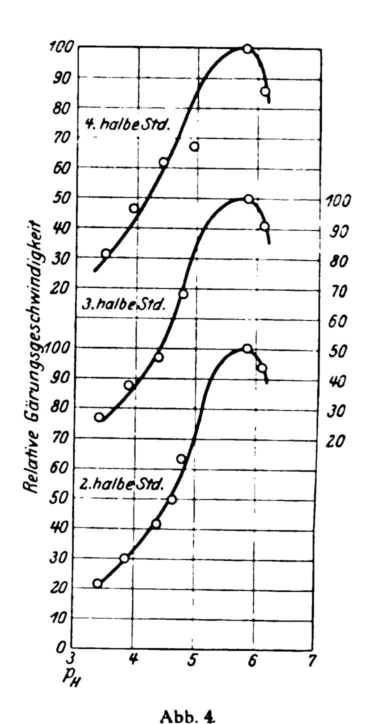


Abb. 4. Vergärung von 5proz. Glucoselösung mit 0,15 m. Milchsäure-Na-Lactat. 0,5 g Trockenhefe R. Die H'-Ionenkonzentration wie unter Abb. 3 angegeben gemessen.

zweite und dritte halbe Stunde angegebenen p_H-Zahlen Mittelzahlen aus den beiden erstgenannten sind. In der Abb. 2 sind alle drei Reihen von p_H-Werten in der angegebenen Weise experimentell ermittelt.

Betrachten wir die Kurven, ergibt sich, wie gesagt, mit aller Deutlichkeit, daß die p_H-Werte der Gärungsoptima während der Gärung konstant bleiben. Hier tritt also keine Verschiebung des Optimums ein, wie wir bei lebender Hefe beobachteten.

Sollte ein Unterschied zwischen Glucose und Maltose bestehen, so ist dieser nicht groß. Wie es in den Kurven (Abb. 5) sich auch zeigt, hat es den Anschein, daß das Optimum der Maltosevergärung etwas mehr nach der alkalischen Seite ($p_H = \sim 6{,}2$) liegt als das Gärungsoptimum der Glucose ($p_H = \sim 5{,}8$).

Betrachten wir die Kurvenzeichnungen in den Abb. 3, 4 und 5, so geht daraus ebenfalls hervor, daß das Optimum der Wasserstoffionenkonzentration in Anwesenheit von Milchsäure in Pufferlösungen während der ganzen Gärung konstant bleibt und den Wert von $p_H = 5{,}8$ behält. Wie aus den Diagrammen (Abb. 3 und 4) hervorgeht, bleibt die Lage des Gärungsoptimums bei Verdoppelung der Hefemenge unverändert. Auch bei der Verwendung von Essigsäure bekamen wir dasselbe Bild.

Allgemein gilt ferner, daß das p_H-Optimum in allen untersuchten Fällen verhältnismäßig sehr scharf hervortritt und die Abschwächung auf beiden Seiten dieses Optimums sowohl nach der sauren als nach der alkalischen Richtung wesentlich stärker ist als bei der Gärung mit lebender Hefe unter Verwendung derselben Säuren.

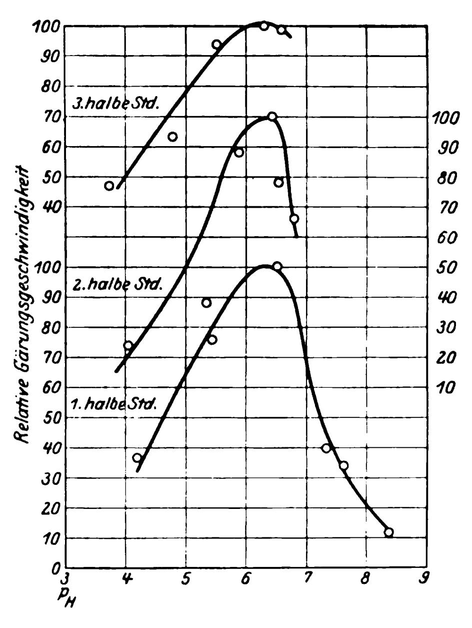


Abb. 5. Vergärung von 5 proz. Maltoselösung mit 0,15 m. Milchsäure-Na-Lactat. 0,7 g Trockenhefe R. Die H'-Ionenkonzentration im Anfang, nach der 2. und 3. halben Stunde gemessen.

Zum rechten Verständnis der vorliegenden Resultate ist folgendes hervorzuheben. Trockenhefe ist, wie besonders *Euler* und *Myrbäck*[1]) hervorgehoben haben, in mehrerer Hinsicht als ein *Enzympräparat* zu betrachten, obwohl die getrockneten und toten Hefezellen noch gewisse Eigenschaften besitzen, die für die lebende Zelle bezeichnend sind. In der Tat haben auch *Euler* und *Myrbäck* bei der Gärung mit Substraten, die Phosphorsäure enthalten, festgestellt, daß die relative Gärungsgeschwindigkeit, welche durch Messung der Kohlensäureentwicklung nach einer gewissen Zeit bestimmt wurde, bei Verwendung von *lebender Hefe* ein wesentlich breiteres p_H-Optimum aufweist als bei Gärung mit *Trockenhefe*. Als Erklärung liegt es ja am nächsten,

[1]) H. **131**, 182, 1923; Chemie der Zelle und Gewebe **12**, 62, 1924.

anzunehmen, daß die lebende Hefezelle in ihrem Innern imstande ist, eine andere Acidität als diejenige der umgebenden Lösung aufrechtzuerhalten. Diese Erklärung haben auch *Euler* und *Myrbäck* in Erwägung gezogen, halten aber auch andere Deutung der Erscheinung für möglich.

Nach unserer Ansicht erscheint es am wahrscheinlichsten, daß durch die Trocknung der Hefe die Permeabilität der Zellwand verändert wird, wodurch innerhalb und außerhalb der Zelle in *kurzer Zeit* praktisch dieselbe Wasserstoffionenkonzentration sich einstellt. Das ist bei lebender Hefe nicht immer in derselben Weise der Fall. Gewisse Säuren durchdringen offenbar die Zellwand der lebenden Zelle recht langsam, wie beispielsweise Milchsäure, andere aber rascher (z. B. Essigsäure). Man kann sogar sagen, daß *die Zeit der Verschiebung des p_H-Optimums ein Maß ist für die Geschwindigkeit der Durchdringung der Säure in das Innere der Zelle.* Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Experimentelles.

Die Gärversuche wurden in derselben Weise ausgeführt, wie in der ersten Mitteilung angegeben wurde. Die Trockenhefe wurde in bekannter Weise durch Trocknung einer Oberhefe R bei gewöhnlicher Temperatur bereitet. Die Hefe wurde uns wie früher in ausgezeichneter Reinheit von der *Stockholms Norra Jästfabrik* durch Herrn Direktor *Brahmer* geliefert, wofür wir bestens danken.

Versuchsreihe I (Abb. 1).

Na_2HPO_4—KH_2PO_4-Mischungen, 0,15 mol., 5proz. Glucoselösung.
Gäransatz: 20 ccm Lösung, 1 g Trockenhefe R.

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
			Kohlensäure in ccm			
Nach 1/2 Stunde	3,3	4,6	8,7	14,5	10,3	11,7
„ 1 „	11,8	15,7	22,2	27,0	21,7	24,2
„ 1 1/2 Stunden	25,8	31,9	37,5	39,1	30,8	33,9
„ 2 „	36,5	42,4	41,6	44,6	37,6	39,8
			Relative Geschwindigkeit			
Nach 1/2 Stunde	23	32	80	100	71	87
„ 1 „	44	58	82	100	80	89
„ 1 1/2 Stunden	66	82	96	100	79	87
„ 2 „	82	96	94	100	85	90
	p_H					
Acidität der Lösungen: unmittelbar nach Hefezusatz	7,35	6,90	6,40	5,71	5,58	5,57
Acidität der Lösungen: nach 2 Stunden Gärung	6,31	6,04	5,64	5,10	5,10	5,05
Acidität der Lösungen: Mittelzahl während der Gärung	6,83	6,47	6,02	5,40	5,36	5,31

Versuchsreihe II (Abb. 2).

Na_2HPO_4—KH_2PO_4-Mischungen, etwa 0,15 mol., 5proz. Maltoselösung.
Gäransatz: 20 ccm Lösung, 1 g Trockenhefe R.

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
Kohlensäure in ccm						
Nach 1/2 Stunde	0,8	5,4	12,0	13,0	8,7	3,7
„ 1 „	10,0	29,0	41,2	28,6	14,3	4,0
„ 1 1/2 Stunden	34,0	43,3	42,5	28,2	18,5	7,7
Relative Geschwindigkeit						
Nach 1/2 Stunde	6	41	92	100	67	28
„ 1 „	24	70	100	69	35	10
„ 1 1/2 Stunden	78	100	98	65	42	17
p_H						
Acidität der Lösungen: unmittelbar nach Hefezusatz	7,6	7,1	6,5	5,9	5,6	4,8
nach 1 Stunde Gärung (Vb)	7,0	6,7	6,3	5,7	5,3	4,8
nach 1 1/2 Stunden Gärung (Va)	6,8	6,6	6,2	5,5	5,1	4,8

Versuchsreihe III (Abb. 3).

Milchsäure-Na-Lactatlösungen, etwa 0,15 mol., 5proz. Glucoselösung.
Gäransatz: 20 ccm Lösung, 1 g Trockenhefe.

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
Kohlensäure in ccm						
Nach 1/2 Stunde	2,3	5,6	8,7	7,9	6,0	4,1
„ 1 „	15,3	16,5	16,1	15,0	10,5	6,2
„ 1 1/2 Stunden	21,4	22,1	21,9	21,1	15,5	9,2
„ 2 „	23,2	26,8	26,0	25,8	19,7	14,0
Relative Geschwindigkeit						
Nach 1/2 Stunde	38	64	100	91	69	47
„ 1 „	93	100	98	91	64	37
„ 1 1/2 Stunden	93	100	99	96	70	41
„ 2 „	87	100	97	96	74	52
p_H						
Acidität der Lösungen: unmittelbar nach Hefezusatz	7,66	6,18	6,03	4,91	4,76	3,77
nach 2 Stunden Gärung	6,28	5,61	5,60	5,06	4,73	3,95
Mittelzahl während der Gärung	6,97	5,85	5,83	4,99	4,75	3,86

Versuchsreihe IV (Abb. 4).

Milchsäure-Na-Lactatlösungen, etwa 0,15 mol., 5proz. Glucoselösung. Gäransatz: 20 ccm Lösung, ½ g Trockenhefe.

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
			Kohlensäure in ccm			
Nach ½ Stunde	4,0	4,0	4,0	3,4	2,7	2,2
„ 1 „	7,1	7,6	4,8	3,2	2,3	1,7
„ 1½ Stunden	10,0	11,0	7,5	5,2	4,2	3,0
„ 2 „	13,1	15,4	10,3	9,4	7,1	4,8
			Relative Geschwindigkeit			
Nach ½ Stunde	100	100	100	85	67	55
„ 1 „	94	100	63	42	30	22
„ 1½ Stunden	91	100	68	47	38	27
„ 2 „	85	100	67	61	46	31
	p_H					
Acidität der Lösungen: unmittelbar nach Hefezusatz	6,13	5,97	4,66	4,35	3,87	3,37
nach 2 Stunden Gärung	6,10	5,79	4,94	4,45	3,95	3,50
Mittelzahl während der Gärung	6,12	5,88	4,80	4,40	3,91	3,44

Versuchsreihe V (Abb. 5).

Milchsäure-Na-Lactatlösungen, etwa 0,15 mol., 5proz. Maltoselösung. Gäransatz: 20 ccm Lösung, 0,7 g Trockenhefe.

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
			Kohlensäure in ccm			
Nach ½ Stunde	1,4	4,2	4,8	12,6	9,5	4,5
„ 1 „	22,6	26,7	34,8	30,7	13,1	7,9
„ 1½ Stunden	35,6	36,1	33,6	18,0	22,7	16,8
			Relative Geschwindigkeit			
Nach ½ Stunde	11	33	39	100	75	36
„ 1 „	65	77	100	88	38	23
„ 1½ Stunden	98	100	93	50	63	47
	p_H					
Acidität der Lösungen: unmittelbar nach Hefezusatz	8,4	7,6	7,4	6,6	5,5	4,2
nach 1 Stunde Gärung (VIb)	6,8	6,6	6,5	6,0	5,4	4,1
nach 2 Stunden Gärung (VIa)	6,6	6,3	5,5	5,5	4,8	3,8

Versuchsreihe VI.

Milchsäure-Na-Lactatlösungen, etwa 0,15 mol., 5proz. Maltoselösung. Gäransatz: 20 ccm Lösung, 0,5 g Trockenhefe.

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
			Kohlensäure in ccm			
Nach ½ Stunde	0,2	3,2	3,5	8,0	6,0	4,0

Versuchsreihe VI (Fortsetzung).

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
Relative Geschwindigkeit						
Nach 1/2 Stunde	3	40	44	100	75	50
p_H						
Acidität der Lösung nach 1/2 zu 1 Stunde Gärung	6,8	6,6	6,5	6,0	5,4	4,1

Versuchsreihe VII.

Essigsäure-Na-Acetatlösungen, etwa n/10, 5proz. Glucoselösung.
Gäransatz: 20 ccm Lösung, 1 g Trockenhefe.

Zeit	I	II	III	IV	V	VI
Kohlensäure in ccm						
Nach 1/2 Stunde	0,8	4,0	3,5	7,2	7,5	6,8
„ 1 „	11,5	19,2	15,3	15,0	17,0	17,0
Relative Geschwindigkeit						
Nach 1/2 Stunde	11	53	47	96	100	91
„ 1 „	68	—	90	88	100	100
p_H						
Acidität der Lösungen: unmittelbar nach Hefezusatz	9,02	8,33	7,40	6,47	6,24	5,67
Acidität der Lösungen: nach 2 Stunden Gärung	6,88	6,38	6,35	6,10	5,91	5,62

Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. III.

Von

P. Rona und **G. Melli.**

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 6. Oktober 1925.)

Die zur Lösung der Frage der „Ionenverteilung" in physiologischen Flüssigkeiten angewandten verschiedenen Dialysierverfahren sind bis vor kurzem zumeist ohne besondere Berücksichtigung der speziellen Beschaffenheit der benutzten Membranen durchgeführt worden; ihre Eigenschaft für Kolloide, im besonderen für Eiweiß undurchgängig, für Ionen im allgemeinen durchgängig zu sein, genügte zunächst, um eine experimentelle Entscheidung einiger in die genannte Richtung fallender Probleme zu ermöglichen. Erst allmählich lernte man die Wichtigkeit der Membran selbst, die Rolle ihrer chemischen und physiko-chemischen Natur kennen[1]) und muß nun auch die bisherigen, an Modellversuchen wie an Pergament- und ähnlichen Membranen gewonnenen Ergebnisse einer neuerlichen, genaueren Prüfung unterziehen. So schien es von Interesse, die Untersuchungen, die gezeigt haben, daß etwa ein Drittel des Gesamtcalciums des Serums in nicht dialysabler Form vorhanden ist[2]) und die an sogenannten „Fischblasen", dann an Schleicher-Schüllhülsen angestellt worden sind, auch mit Kollodiummembranen zu wiederholen und nachzusehen, ob Änderungen in der Beschaffenheit der Kollodiummembran durch verschiedene Zusätze eine Änderung qualitativer oder quantitativer Art in dem Verhalten des diffusiblen Calciums bewirken oder nicht.

---

[1]) Von den in diese Richtung fallenden Arbeiten sei hier nur auf die Arbeit von *Brinkmann* und *Szent-Györgyi*, diese Zeitschr. **139**, **261**, 1923, dann auf die nach Abschluß dieser Untersuchung erschienene interessante Arbeit von *Michaelis* und *Fujita*, diese Zeitschr. **161**, **47**, **1925**, verwiesen. Die während der Korrektur erschienene Arbeit von *A. Augsberger*. Ergeb. Physiol. **24**, 618, 1925, konnte bei dieser Mitteilung nicht mehr berücksichtigt werden.

[2]) *P. Rona* und *D. Takahashi*, diese Zeitschr. **81**, **336**, **1911**.

Zu diesem Zwecke wurden die folgenden Dialysierhülsen angewendet: 1. *Schleicher* und *Schüll*, Nr. 579; 2. Hülsen aus 6proz. alkoholätherischer Kollodiumlösung (*Schering*); 3. Kollodium-Gelatinehülsen. Die Kollodiumhülsen wurden 24 Stunden lang in eine 1proz. Gelatinelösung getan und daraufhin mit warmem Wasser ausgewaschen. 4. Kollodium-Cholesterinhülsen (1 g Cholesterin auf 100 ccm der Kollodiumlösung). Die Hülsen sehen weißlich-opak aus und sind nicht ganz homogen; 5. Kollodium-Lecithinhülsen [1,0—0,3—0,1 g Lecithin (*Merck*) auf 100 ccm Kollodiumlösung]; 6. Kollodium-Cholesterin-Lecithinhülsen [auf je 100 ccm Kollodiumlösung a) 0,5 g Lecithin + 0,5 g Cholesterin, b) 0,9 g Lecithin + 0,1 g Cholesterin, c) 0,1 g Lecithin + 0,9 g Cholesterin]; 7. Kollodiumhülsen mit Natriumoleat und mit taurocholsaurem Natrium. Man legte die gewöhnlichen Kollodiumhülsen 4 Tage lang in n/10 Natriumoleat bzw. n/10 taurocholsaure Natriumlösung, nachher wurden die Hülsen sorgfältig gewaschen[1]); 8. Kollodium-Amylalkoholhülsen (Amylalkohol zu 10proz. Kollodiumlösung); 9. Kollodium-Gummihülsen, a) 6proz. Kollodiumlösung + 1proz. benzolische Gummilösung 1 : 1, b) 10proz. Celloidinlösung (*Schering*) in Zellapol + 4proz. Gummilösung in Trichloracetylen 1 : 1. Hülsen und Kollodium mit Aceton nach *Acheshow*[2]) waren wegen ihrer hohen Zerreißbarkeit für die vorliegenden Zwecke nicht geeignet.

Läßt man in Schleicher-Schüllhülsen Serum gegen physiologische Kochsalzlösung dialysieren, so wird das Volumen der Innenflüssigkeit (Serum) auch bei lang dauernder Dialyse kaum vermehrt; bei Anwendung der stark negativen Kollodiummembranen nimmt es hingegen ganz außerordentlich zu[3]). In beiden Fällen ist Eiweiß nicht in die Außenflüssigkeit gegangen, die „rein osmotischen" Verhältnisse sind — da, soweit bis jetzt untersucht, die frischen Kollodiumhülsen ebenso wie die Schleicher-Schüllhülsen für die Salze glatt durchgängig sind — demnach in beiden Fällen die gleichen; aber nur im Falle der Kollodiummembran ist die sehr starke „anomale" Osmose nach innen (zum Serum) vorhanden. Einlegen der Hülsen in Kristallviolett (1 : 1000) oder in n/10 Thoriumnitratlösung änderte an diesen Verhältnissen, die auch an den Kollodiumhülsen mit fremden Zutaten, besonders bei Lecithinzusatz, zu beobachten waren, nichts. Im Gegensatz hierzu entstand bei Benutzung von n/10 Thoriumnitratlösung als Außenflüssigkeit eine *negative* Osmose, die so stark war, daß nach einigen Stunden im Innern der Dialysierhülse nur noch ein kleiner Rest des Serums übrig blieb. Verringerte man nun die Konzentration der Thoriumnitratlösung, so sank auch entsprechend die negative Osmose, bis bei einer Konzentration von n/100 das Serum sich ungefähr im „osmotischen Gleichgewicht" befand. Bei weiterer Verminderung der Thoriumsalzkonzentration entsteht wieder ein nach innen gerichteter osmotischer Strom, der bei etwa n/500 Thoriumnitrat ungefähr einer Außenflüssigkeit aus

---

[1]) Vgl. hierzu *Brinkmann* und *Szent-Györgyi*, l. c.
[2]) C. r. soc. biol. 92, 362, 1925.
[3]) Vgl. hierzu *Michaelis*, Praktikum, 2. Aufl., S. 90.

reinem, destilliertem Wasser entsprach. Als Kontrollen wurden parallele Versuche mit NaCl-Lösung als Außenflüssigkeit von gleicher oder höherer molarer Konzentration hergestellt; in allen Fällen fand sich die ungemein starke anomale Osmose nach innen.

Um die Untersuchungen auszuführen, mußte jedenfalls die intensive Wasserströmung nach innen verhindert werden. Zu diesem Zwecke wurde die Kollodiumhülse an einem durchbohrten Gummipfropfen festschließend angeklebt und durch den Pfropfen eine Kapillarpipette in der Art eines Osmometers eingeführt und mittels zweier Niveaugefäße ein Druck durch die Pipette erzeugt, der dem Aufsteigen des Serums gerade die Wage hielt. Noch einfacher kommt man zum Ziele, wenn man etwas Luft in die Pipette bläst, die man dann sofort mit Gummischlauch und Klemme verschließt; hierbei regulieren sich die Druckverhältnisse automatisch.

Angewandt wurde die Methode der Kompensations-Schnelldialyse[1]. Die Dauer der Dialyse betrug im allgemeinen 1 bis 3 Stunden, sie wurde jedoch in einigen Fällen bis auf 24 bis 48 Stunden ausgedehnt. Als Außenflüssigkeit wurde, wenn nicht anders angegeben, physiologische Kochsalzlösung mit variierten $CaCl_2$-Mengen angewandt. Die Außenflüssigkeit hatte je nach Versuchsbedingungen ein p_H von 7,4 bis 4,9, die innere Flüssigkeit (Serum) ein p_H von 7,7. Die beiden Werte gleichen sich während der Dialyse innerhalb 1 bis 1½ Stunden vollkommen aus; der Endwert ist etwa p_H 6,5. Alle Messungen wurden elektrometrisch in U-Elektroden ausgeführt. Das angewandte Serum stammte von Mensch, Pferd, Kaninchen, Schwein. Auch bei stark hämolytischen Seren, selbst bei Benutzung von Kollodiumhülsen mit ölsaurem und taurocholsaurem Natrium, ging das Hämoglobin nicht durch die Membran[2]). Die Ca-Bestimmung erfolgte nach *de Waard* nach Veraschung des Serums.

Die Versuche verliefen im einzelnen wie folgt. Die Calciummengen sind in Milligrammprozenten angegeben.

Versuch 1. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium.
Innen: menschliches Serum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen				Innen			
Calcium		p_H	ccm	Calcium		p_H	ccm
vorher	nachher	vorher		vorher	nachher	vorher	
13,9	11,1	5,24	8	11,2	15,0	7,64	4
8,1	8,3	5,07	8	11,2	11,0	7,64	4
6,4	7,8	5,05	8	11,2	9,5	7,64	4

Nicht dialysiert etwa 31 Proz. Ca.

---

1) *P. Rona, F. Haurowitz* und *H. Petow*, diese Zeitschr. **149**, 393, 1924.
2) Vgl. hierzu *Brinkman* und *Szent-Györgyi*, l. c.

Versuch 2. Hülsen von *Schleicher* und *Schüll*.
Innen: menschliches Serum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen					Innen				
Calcium		p_H		ccm	Calcium		p_H		ccm
vorher	nachher	vorher	nachher		vorher	nachher	vorher	nachher	
13,7	10,7	5,21	6,90	8	11,6	15,0	7,71	6,87	4
8,1	7,9	5,07	6,85	8	11,6	11,8	7,71	6,84	4
6,6	7,5	5,04	6,81	8	11,6	9,6	7,71	6,87	4

Nicht dialysiert etwa 33 Proz. Ca.

Versuch 3. Hülsen aus Kollodium + 1 Proz. Cholesterin.
Innen: Kaninchenserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
13,5	12,1	5	13,0	15,1	3
8,3	8,1	5	13,0	13,4	3
6,6	7,5	5	13,0	11,1	3

Nicht dialysiert etwa 37 Proz. Ca.

Versuch 4. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + 1 Proz. Lecithin.
Innen: Kaninchenserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen					Innen				
Calcium		p_H		ccm	Calcium		p_H		ccm
vorher	nachher	vorher	nachher		vorher	nachher	vorher	nachher	
13,5	12,0	5,09	6,87	5	13,4	15,9	7,52	6,87	3
8,2	7,4	5,07	6,84	5	13,4	14,7	7,52	6,82	3
6,5	6,8	5,00	6,88	5	13,4	13,0	7,52	6,85	3

Nicht dialysiert etwa 55 Proz. Ca.

Versuch 5. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + 0,5 Proz. Lecithin + 0,5 Proz. Cholesterin. Innen: Pferdeserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
13,3	12,1	5	12,7	14,1	4
8,2	7,6	5	12,7	13,6	4
6,4	6,7	5	12,7	12,6	4

Nicht dialysiert etwa 48 Proz. Ca.

Versuch 6. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + 0,1 Proz. Lecithin + 0,9 Proz. Cholesterin. Innen: Pferdeserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
12,2	10,9	5	12,6	14,2	3
8,1	8,0	5	12,6	12,6	3
6,0	7,2	5	12,6	10,8	3

Nicht dialysiert etwa 36 Proz. Ca.

Versuch 7. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + 0,9 Proz. Lecithin + 0,1 Proz. Cholesterin. Innen: Pferdeserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
12,1	10,8	5	12,9	14,5	3
8,15	9,1	5	12,9	14,3	3
6,1	6,2	5	12,9	12,6	3

Nicht dialysiert etwa 52 Proz. Ca.

Versuch 8. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + 0,3 Proz. Lecithin. Innen: Pferdeserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
12,2	10,8	5	12,5	14,7	3
8,1	6,9	5	12,5	14,2	3
6,0	6,2	5	12,5	12,7	3

Nicht dialysiert etwa 51 Proz. Ca.

Versuch 10. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + 0,1 Proz. Lecithin. Innen: Pferdeserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
12,2	11,0	5	12,5	14,2	3
8,1	7,9	5	12,5	12,8	3
6,0	7,1	5	12,5	11,2	3

Nicht dialysiert etwa 36 Proz. Ca.

Versuch 11. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + Gelatine.
Innen: Pferdeserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
14,1	12,8	5	12,7	14,9	4
8,2	8,1	5	12,7	12,9	4
6,4	7,1	5	12,7	11,7	4

Nicht dialysiert etwa 34 Proz. Ca.

Versuch 12. Hülsen aus Kollodium + taurocholsaures Na.
Innen: Schweineserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
12,5	11,1	6	13,0	14,5	6
8,1	8,1	6	13,0	13,1	6
6,2	7,3	6	13,0	12,0	6

Nicht dialysiert etwa 33 Proz. Ca.

Versuch 13. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + Natriumoleinat.
Innen: Schweineserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen					Innen				
Calcium		p_H		ccm	Calcium		p_H		ccm
vorher	nachher	vorher	nachher		vorher	nachher	vorher	nachher	
12,5	10,8	4,91	6,82	6	13,0	14,5	7,72	6,85	6
8,1	8,2	5,07	6,91	6	13,0	13,0	7,72	6,93	6
6,2	7,4	5,04	6,93	6	13,0	11,7	7,72	6,90	6

Nicht dialysiert etwa 38 Proz. Ca.

Versuch 14. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + Digitonin (n/100).
Innen: Kaninchenserum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen					Innen				
Calcium		p_H		ccm	Calcium		p_H		ccm
vorher	nachher	vorher	nachher		vorher	nachher	vorher	nachher	
12,5	11,1	5,35	6,97	5	13,1	14,9	7,97	6,90	3
8,2	8,0	5,31	6,99	5	13,1	12,9	7,97	6,92	3
6,0	7,2	—	—	5	13,1	10,8	7,97	6,92	3

Nicht dialysiert etwa 38 Proz. Ca.

Versuch 15. Hülsen aus 1 Proz. Gummi in Benzol, 6 Proz. Kollodium 1 : 1. Innen: menschliches Serum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen					Innen				
Calcium		p_H		ccm	Calcium		p_H		ccm
vorher	nachher	vorher	nachher		vorher	nachher	vorher	nachher	
13,0	12,0	5,30	6,99	5	12,9	13,75	7,81	6,85	3
8,4	8,3	5,35	6,91	5	12,9	13,0	7,81	6,90	3
6,1	6,8$_5$	5,41	6,94	5	12,9	12,0	7,81	6,92	3

Nicht dialysiert etwa 36 Proz. Ca.

Versuch 16. Hülsen aus 10 Proz. Kollodium (*Schering*) in Zellapol und 4 Proz. Gummi in Trichloräthylen 1 : 1. Innen: menschliches Serum: außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen			Innen		
Calcium		ccm	Calcium		ccm
vorher	nachher		vorher	nachher	
13,0	11,3	6	12,7	14,0	5
8,2	8,2	6	12,7	12,9	5
6,1	7,6	6	12,7	11,3	5

Nicht dialysiert etwa 36 Proz. Ca.

Versuch 17. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium + 10 Proz. Amylalkohol. Innen: menschliches Serum; außen: physiologische Kochsalzlösung + $CaCl_2$.

Außen					Innen				
Calcium		p_H		ccm	Calcium		p_H		ccm
vorher	nachher	vorher	nachher		vorher	nachher	vorher	nachher	
13,0	11,3	5,30	—	5	12,8	14,3	7,81	—	3
8,4	8,0	5,35	6,91	5	12,8	13,1	7,81	6,87	3
6,1	7,6	5,41	6,89	5	12,8	11,2	7,81	6,87	3

Nicht dialysiert etwa 36 Proz. Ca.

Versuch 18. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium. Innen: Schweineserum; außen: destilliertes Wasser.

Außen				Innen			
Calcium		p_H	ccm	Calcium		p_H	ccm
vorher	nach 48 Stunden	vorher		vorher	nach 48 Stunden	vorher	
0	4,1	7,41	8	13,0	8,1	7,21	8

Nicht dialysiert etwa 35 Proz. Ca.

Versuch 19. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium. Innen: Schweineserum; außen: physiologische Kochsalzlösung.

Außen				Innen			
Calcium		p_H	ccm	Calcium		p_H	ccm
vorher	nach 48 Stunden	vorher		vorher	nach 48 Stunden	vorher	
0	4,4	7,40	8	13,0	8,1	7,21	8

Nicht dialysiert etwa 35 Proz. Ca.

Versuch 20. Hülsen aus 6 Proz. Kollodium. Innen: Kaninchenserum; außen: destilliertes Wasser + $CaCl_2$.

Außen					Innen				
Calcium		p_H		ccm	Calcium		p_H		ccm
vorher	nachher	vorher	nachher		vorher	nachher	vorher	nachher	
12,4	11,0	5,32	6,87	6	13,1	14,6	7,97	6,91	3
7,9	8,1	5,40	6,85	6	13,1	12,9	7,97	6,87	3
6,0	7,5	—	—	6	13,1	11,2	7,97	—	3

Nicht dialysiert etwa 37 Proz. Ca.

Wie man aus den Versuchen ersieht, waren in allen Fällen, bei allen Arten der Kollodiumhülsen, mit Ausnahme der Kollodium-Lecithinhülsen, die Resultate übereinstimmend, indem 31 bis 39 Proz. des Gesamtcalciums in nicht dialysablem Zustande vorhanden waren[1]). Bei den Lecithinhülsen steigen jedoch diese Werte auf 50 bis 55 Proz. Schon geringe Beimengungen dieser Substanz zum Kollodium konnten das Verhalten des Calciums in seiner Dialysierbarkeit wesentlich beeinflussen. Der untere Wert dieses Einflusses liegt bei einem Gehalt von 0,1 bis 0,3 Proz. Durch Cholesterinbeimengung scheint diese Wirkung des Lecithins nicht verändert zu werden. Nach *R. Loeb*[2]) ist der Calciumgehalt des Serums (oder einer dem Serumgehalt entsprechenden Menge Lösung von Euglobulin oder Pseudoglobulin) zu 25 bis 45 Proz. nicht dialysierbar, wenn als Außenflüssigkeit destilliertes Wasser (bei p_H 7,4) dient; das Calcium wird jedoch vollkommen dialysierbar gegen eine physiologische Kochsalzlösung vom obigen p_H. Bei unserer Versuchsanordnung konnten wir diesen Befund nicht beobachten.

[1]) In allen Fällen scheinen 4 bis 8 Proz. des Gesamtcalciums an der Membran adsorbiert zu werden.

[2]) Journ. Gen. Phys. 6, 453, 1924; *R. Loeb* und *E. Nichols*, Proc. of the Soc. f. exper. biol. and med. 22, 275, 1915.

Zusammenfassung.

Bei Kollodiumhülsen von verschiedener Zusammensetzung wurde die Menge des nicht dialysablen Calciums im Serum zu 31 bis 39 Proz. des Gesamtcalciums gefunden. Schon eine geringe Beimengung von Lecithin zu der Kollodiummembran (etwa 1 g Lecithin *Merck* zu 100 ccm 6proz. Kollodiumlösung) bewirkt jedoch, daß über 50 Proz. nicht dialysabel werden.

Die stark anomale (positive) Osmose einer physiologischen Kochsalzlösung gegen Serum bei Anwendung von Kollodiumhülsen wird, falls n/10 bis n/100 Thoriumnitratlösung als Außenflüssigkeit benutzt wird, ganz unterdrückt bzw. in stark negative Osmose umgewandelt.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Berichtigung

zu der Arbeit *Kretschmer* und *Frieder* „Cholesterinuntersuchungen bei Bleivergiftung", diese Zeitschr. 164, 44—46, 1925.

Bei den Cholesterinwerten muß es statt:

„mg-Proz. bzw. mg in 100 ccm"

heißen:

„*g-Proz.* und *g in 100 ccm*".

Weitere Untersuchungen über den Stoffwechsel bei der Avitaminose.

Von

A. Bickel.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 5. September 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Den Untersuchungen über die bei der Avitaminose sich einstellenden Stoffwechselstörungen, die in früheren Jahren in dem meiner Leitung unterstellten Laboratorium ausgeführt wurden, und die ich im Jahre 1924 in dieser Zeitschrift zusammenfassend in meiner Arbeit „*Das Wesen der Avitaminose*" darstellte, sind weitere gefolgt, zu denen auch die Versuche gehören, über die in der vorliegenden Mitteilung berichtet werden soll. Zum Verständnis des Zusammenhangs aller dieser Einzelstudien erscheint es zweckmäßig, einleitend kurz die wesentlichen Ergebnisse der bisher veröffentlichten Untersuchungen zusammenzufassen.

Bei tadelloser Resorption der auf das Anfangskörpergewicht des Hundes berechneten kalorisch suffizienten, gemischten, vitaminfreien Nahrung nimmt das Körpergewicht des Hundes bei der Avitaminose progressiv ab. Die schließlich eintretenden Gewichtsverluste betragen $^1/_4$ bis $^1/_3$ des Anfangsgewichtes. Gleichzeitig vermindert sich der Luftsauerstoffverbrauch in den ersten Wochen etwas stärker, dann aber in der späteren Zeit nur noch wenig. Eiweiß wird ausweislich der sich progressiv leicht vermehrenden N-Ausfuhr durch den Harn in gesteigertem Umfange zersetzt, aber da die prozentige Mischung der wichtigsten N-Verbindungen (Harnstoff, Aminosäuren, Ammoniak, Kreatinin usw.) im Harne ungefähr normal bleibt, kann man annehmen, daß die Oxydation am Eiweiß in qualitativ normaler Weise bei einer quantitativen Steigerung vor sich geht. Der avitaminöse Körper verliert seine Fettdepots fast vollständig. Aceton, Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure treten weder im Blute noch im Harne in vermehrter Menge auf. So kann man wohl

annehmen, daß auch die Fettoxydation in qualitativ ungefähr normalem, aber in quantitativ gesteigertem Umfange verläuft. Nur unter besonderen Versuchsbedingungen läßt sich eine gewisse Verzögerung in dem Umsatz des zirkulierenden Fettes nachweisen. Bei der Avitaminose findet sich ferner auch nach den Angaben von verschiedenen Autoren eine Herabsetzung des respiratorischen Quotienten, *Asada fand sie in unserem Laboratoriumauch bei vitaminarm ernährten Hunden bei praktisch quantitativer Nahrungsresorption.* Alles dies deutet auf eine gesteigerte Eiweiß- und Fettoxydation hin. Wenn nun trotz der allem Anschein nach qualitativ normal verlaufenden Eiweiß- und Fettverbrennung bei einer quantitativen Steigerung derselben der gesamte Luftsauerstoffverbrauch leicht aber deutlich vermindert war bei sich senkendem respiratorischen Quotienten bei den Hunden mit gleichmäßiger, tadelloser Nahrungsresorption, dann konnte nur das Kohlehydrat mit vermindertem Sauerstoffverbrauch umgesetzt worden sein.

Am Kohlehydratstoffwechsel hatten bei der Avitaminose, allerdings in Versuchen ohne Berücksichtigung der Nahrungsresorption, viele Autoren Störungen gesehen (*Ogata*, *Schinoda*, *Collazo* u. a.). Vielfach wurde auch nach einer rasch vorübergehenden initialen Hypoglykämie eine starke Hyperglykämie beobachtet, die gegen Ende der Krankheit wieder etwas abklang, ohne daß jedoch der normale Blutzuckerwert wieder erreicht wurde. Ferner hat man Beziehungen zwischen der Kohlehydratzufuhr und dem Ausbruch nervöser Störungen festgestellt und daraus geschlossen, daß beim intermediären Kohlehydratstoffwechsel im avitaminösen Körper Giftstoffe für das Nervensystem entstünden. Endlich sah man ausnahmsweise bei der Avitaminose eine leichte Glykosurie auftreten und in Spätstadien auch eine Ausscheidung von Glykuronsäure im Harn (*Collazo*, *Schinoda* u. a.). Endlich war die Glykogenarmut der Leber festgestellt worden.

Alles sprach also dafür, daß bei der Avitaminose am intermediären Kohlehydratstoffwechsel die verlangte Oxydationshemmung sitzen müsse.

Wenn man nun in Erwägung zog, daß im Verlaufe der Avitaminose täglich das gleiche Nahrungsquantum resorbiert und umgesetzt wurde, und daß außerdem noch ein Teil des Körpermaterials umgesetzt wurde, das das Tier in die Avitaminose mit hineingebracht hatte, und man weiter sah, daß trotz dieses gesteigerten Umsatzes mit seiner Konsequenz der Körpergewichtsverminderung der Luftsauerstoffverbrauch nicht erhöht, sondern sogar erniedrigt war, dann konnte auch der bei diesem gesteigerten Umsatz frei werdende Kohlenstoff nicht in dem Maße als Kohlensäure durch die Lungen ausgeatmet werden, wie es in der Norm der Fall ist. Es mußte eine gewisse Quote dieses Kohlenstoffs entweder im Körper zurückbleiben, und der Körper mußte so kohlenstoffreicher

werden, oder der Kohlenstoff mußte auf anderem Wege ausgeschieden werden.

Als nun *Schimizu* im hiesigen Laboratorium den Harn von avitaminösen Hunden auf seinen Kohlenstoffgehalt untersuchte, stellte sich heraus, daß unter der Voraussetzung tadelloser Nahrungsresorption der Kohlenstoff sich langsam aber deutlich bei der Ausbildung der Avitaminose allmählich im Harne etwas vermehrte, und daß trotz gleichbleibender oder gleichzeitiger Erhöhung der N-Ausfuhr dennoch der Harnquotient C : N eine aufstrebende Tendenz zeigte. Diese Beobachtungen bezogen sich auf die ersten Wochen der Avitaminose. Es hatten aber diese Versuche doch den Beweis erbracht, daß bei der Avitaminose eine vermehrte C-Ausscheidung durch den Harn Platz greift, und daß diese größer ist als die gleichzeitig vorhandene gesteigerte N-Ausscheidung. Das war der Stand der Untersuchung, von dem die folgenden Arbeiten ausgingen, die Herr Dr. *Kauffmann-Cosla* ausführte.

Experimentelle Untersuchungen über die dysoxydative Carbonurie bei der Avitaminose und ihre Beeinflussung durch Insulin und Ionen.

Von

Dr. **Kauffmann-Cosla** (Bukarest).

Je tiefer man in die Vorgänge des intermediären Stoffwechsels eindrang, um so mehr lernte man einmal das innige Ineinandergreifen der Umsetzungen bei den drei organischen Stoffwechselkomponenten, dem Eiweiß, Fett und Kohlehydrat kennen, um so mehr aber auch den Einfluß verstehen, den die Vitamine der Nahrung, die Sekretinsubstanzen, die stoffwechselregulatorischen Hormone und Ionen auf diese Umsetzungen ausüben. Die physiologische Chemie hat uns die Brücken kennen gelehrt, die vom Fett und von den N-freien Eiweißkomplexen zum Kohlehydrat führen, und sie hat uns gezeigt, wie im Mittelpunkt des Kraftstoffwechsels, unbeschadet der lebenswichtigen Funktion des durch keine andere Substanz in dieser Hinsicht ersetzbaren Eiweißes, das Kohlehydrat steht.

Bei diesen Umsetzungen, die sich um das Glykogen gruppieren, und die vom Fett einerseits und von den N-freien Eiweißkomplexen andererseits zu ihm hinstrahlen, handelt es sich vor allem teils um Vorgänge anoxydativen und oxydativen Abbaues, teils aber auch um oxydative Synthesen.

Die Endresultate, zu denen diese ganzen intermediären Umsetzungen mit ihrem Abbau und partiellen Wiederaufbau und immer wiederholtem Abbau, also diese Kreisprozesse, wie man sie genannt

hat, hinführen, erkennen wir in den Ausscheidungen des Körpers, vor allem in der Ausatmungsluft und im Harne, aber auch im Kote und den Absonderungen der Haut. Diese Ausscheidungsprodukte aber stellen auch wieder Verbindungen dar, die vielfach erst durch synthetische Prozesse ausscheidungsreif gemacht worden sind. Dabei können natürlich Kopplungen entstehen von Stoffwechselschlacken verschiedenster Provenienz. Es kann Eiweißstickstoff mit Fett- oder Kohlehydratabkömmlingen gepaart werden, und es zeigt keineswegs der N-Gehalt einer Verbindung ohne weiteres an, daß ihre C-Komponenten ebenfalls dem Eiweiß entstammen müssen.

Bis das der Zelle zugeführte Nährmaterial verwendungsfähig für die Zelle geworden ist, erleidet es ebenfalls vielfache Veränderungen. Das lehrt uns besonders eindringlich der Kohlehydratstoffwechsel. Der Abbau des Glykogens bis zu der durch die Zelle verwendungsfähigen Glykose führt über viele Zwischenstufen, die wir nur zum Teil kennen. Hier sind die Arbeiten von *Neuberg*, *Embden*, *Meyerhof*, *Pringsheim*, *Laqueur* u. a. zu nennen. Wir haben Grund zu vermuten, daß sich diese Umsetzungen zum Teil erst in dem Blute oder in dem flüssigen Milieu vollziehen, in das die Körperzellen eingebettet sind, vielleicht auch in der Zelle selbst. Die Beobachtungen von *Külz*, *Arnoldi*, *Mendel*, *Goldscheider* u. a. über die Bedingungen des Verschwindens der reduzierbaren Glykose aus dem Blute bei alimentärer Überbelastung des Körpers mit Zucker, wie die Beobachtungen über die Wechselbeziehungen zwischen dem „Eiweißzucker" und dem „freien" Zucker des Blutes weisen darauf hin, daß den Geweben und Flüssigkeiten der Körperperipherie ein großer Einfluß auf die Regulation des Blutzuckerspiegels zusteht, und daß die Leber erst sekundär eingreift.

An solche peripherischen Vorgänge werden wir vor allem denken, wenn wir von dem stoffwechselregulatorischen Einfluß der Hormone und Ionen, unbeschadet ihrer speziellen Wirkungen auf das vegetative Nervensystem, und besonders auch der Vitamine hören. Diese Stoffe können die letzte Vorbereitung der Nährstoffe zur Aufnahme in die Zellen vornehmen und die Zelle selbst in den Zustand versetzen, die Nahrung aufzusaugen und in sich zum Ersatz des beim Lebensprozeß und bei der Funktion sich abnutzenden Zellmaterials einzufügen, und sie können so auch gewisse Voraussetzungen für das Wachstum schaffen. Gleichzeitig aber können sie nach Art von Katalysatoren, um den Vorgang durch einen Vergleich verständlich zu machen, die Verbrennungen in den Zellen fördern, so daß in energetischer Beziehung die in der Nahrung vorhandenen Spannkräfte voll ausgenutzt werden.

Beförderung der Assimilation durch direkte oder indirekte Begünstigung des Zustandekommens von Synthesen in der Zelle, aber

auch Beförderung der Dissimilation im Sinne der Durchführung einer möglichst vollkommenen Oxydation des Zerfallsmaterials und Ausnutzung seiner Spannkräfte für den Kraft- und Wärmehaushalt des Körpers werden wir als die beiden wichtigen Aufgaben betrachten dürfen, an denen die Vitamine, die Hormone und Ionen mitzuarbeiten haben. Und diese beiden Prozesse werden dann obendrein noch durch die antagonistische Wirkung der verschiedenen Hormone und Ionen unter sich reguliert. Wird durch eine irgendwie geartete Störung dieser Regulation die Ausnutzung der Energie in einzelnen oder allen organischen Substanzen herabgesetzt, so kann es wieder sekundär zu einem gesteigerten Zerfall solcher Substanzen kommen, indem durch den Abruf größerer Materialmengen die schlechte Energieausnutzung des abgerufenen Materials kompensiert werden soll.

Dann wächst sich die Oxydationsherabsetzung zu einer Erhöhung der Dissimilation, was die Masse des dissimilierten Materials anlangt, aus. Und wenn schon die Assimilation gestört ist, kann auch aus diesem Grunde der Körper in erhöhtem Umfange vom eigenen Material leben müssen.

Also man sieht: Assimilationsherabsetzung und Oxydationshemmung können zusammen eine Dissimilationssteigerung bewirken. Aber die Produkte der Dissimilation müssen in diesem Falle zum Teil wenigstens unvollständig verbrannte Substanzen sein.

Der Gegenstand der Untersuchungen der vorliegenden Arbeit ist das Studium des Zustandekommens und der Folgen der herabgesetzten Oxydation, besonders bei Vitaminmangel der Nahrung, wie deren therapeutische Beeinflussung durch Insulin.

1. Im normalen Körper kann die Oxydation herabgesetzt werden durch Einschränkung der Luftsauerstoffzufuhr. Dieser Fall ist gegeben beim Aufenthalt des Menschen im Hochgebirgsklima. *Zuntz* und *A. Loewy* fanden in Stoffwechselversuchen am Menschen in Höhen von 4000 m, daß der Gehalt des Harns an Aminosäuren und Milchsäure ansteigt, und daß damit eine Erhöhung des kalorischen Harnquotienten, der mit dem Quotienten C : N bekanntlich parallel geht, verknüpft ist. Eine Aminosäurevermehrung im Harn tritt gewöhnlich ein, wenn der Körper von sich aus regulatorisch die Oxydation einschränkt, so z. B. bei der Unterernährung und beim Hunger. Aus den Versuchen von *Zuntz* und *A. Loewy* geht also hervor, daß auch bei genügender Ernährung das gleiche Phänomen beobachtet wird, wenn die Luftsauerstoffzufuhr eingeschränkt ist. Die Aminosäurevermehrung darf man wohl in erster Linie mit einer Einschränkung der Oxydation am Eiweiß in Zusammenhang bringen. Die Milchsäurevermehrung deutet auf eine Oxydationsverminderung am Kohlehydrat hin. Die Beobachtungen von *Araki*, *Fürth* u. a. über das Auftreten von Milchsäure im Harn nach Absperrung der Luftsauerstoffzufuhr oder bei CO-Vergiftung, wie über die Abhängigkeit der Harnmilchsäure vom Kohlehydratstoffwechsel fallen in dieselbe Richtung. *Wir stellen also fest, daß beim normalen, suffizient ernährten Körper eine Ein-*

schränkung der Luftsauerstoffzufuhr zu einer Vermehrung des dysoxydablen Harnkohlenstoffs führt, daß also unter diesen Umständen eine pathologische Stoffwechsellage entsteht, die wir als „dysoxydative Carbonurie“ bezeichnet haben.

2. Im normalen Körper kann ferner eine Oxydationsverminderung sich einstellen, wenn das zu oxydierende Material dem Umfange nach über das Oxydationsvermögen des Organismus hinausgeht. Diese Störung ist bisher mit Sicherheit bei einer Überbelastung des Körpers mit Kohlehydrat beobachtet worden. In diesem Falle ist der dysoxydable Kohlenstoff im Harne ebenfalls vermehrt.

Unter physiologischen Verhältnissen beobachtet man eine derartige dysoxydative Carbonurie ex alimentatione beim gesunden Brustkinde. Das geht aus den Versuchen von *Rubner* und *Heubner*, *van Oordt*, *Langstein* und *Steinitz* u. a. hervor, denn unter diesen Verhältnissen liegt beim Säugling der Harnquotient C : N außerordentlich hoch, nämlich über 1; er sinkt bei künstlicher Ernährung mit geringem Kohlehydratgehalt, steigt bei künstlicher Ernährung mit hohem Milchzuckergehalt.

Beim erwachsenen Menschen und auch in Tierversuchen fanden *Rubner* u. a. eine *Steigerung* des Harnquotienten C : N bei vornehmlicher Kohlehydraternährung, *Camerer* bei sehr N-armer Ernährung; der Quotient liegt dann bei 0,9 oder etwas darüber, *Camerer* fand sogar bei sehr geringem N-Gehalt der Nahrung einen über 1 liegenden Quotienten.

Diese Steigerung des Quotienten in den soeben genannten Fällen braucht noch nicht mit einer Ausscheidung von Substanzen im Harne einherzugehen, die die *Fehling*sche Lösung reduzieren; Substanzen, die das tun, bezeichnen wir mit allem Vorbehalt als Glucose.

Beim normalen Körper führt aber eine exzessiv gesteigerte Belastung des Stoffwechsels mit Traubenzucker zur Glykosurie. Diese Glykosurie kann zwei Ursachen haben. Einmal kann die Absorptionskraft der Gewebe und die Bindungsfähigkeit des Eiweißes der Gewebsflüssigkeiten für den das Blut überschwemmenden Zucker eine gewisse obere Grenze haben, bei deren Überschreitung der Zucker dann durch die Nieren abfließt. Denn in solchen Fällen hinkt die Glykogenanreicherung der Leber beträchtlich hinter der Zuckerreinigung des Blutes nach. Es muß also der Zucker primär vom Gewebe und Eiweiß aufgenommen und dann erst aus diesen Depots wieder sukzessive der Leber zur Glykogenisierung zugeführt werden (*Külz*, *Mendel* und *Goldscheider*).

Der alimentären Glykosurie braucht also zunächst keine Oxydationsstörung zugrunde zu liegen; es wird aber — und das wäre die zweite Ursache für eine solche Glykosurie — eine Oxydationsstörung, d. h. ein Unvermögen des Körpers, solche abnorm großen Zuckermengen oxydativ zu bewältigen, wohl mit im Spiele sein, wenn wir sehen, daß durch den prinzipiell gleichen, aber nur quantitativ geringeren Eingriff der dysoxydable Harnkohlenstoff schon ansteigt, ohne daß Zucker ausgeschieden wird.

Jedenfalls geht aus alledem hervor, daß auch durch eine starke Belastung des im übrigen normalen Körpers mit kohlehydrathaltiger Nahrung eine Carbonurie zustande kommt, die schließlich auch zu einer Glykosurie führen kann, und daß dabei eine mangelhafte Oxydation mit im Spiele ist. Hier handelt es sich also um eine dysoxydative Carbonurie ex alimentatione beim normalen Körper, die mit dem Kohlehydratstoffwechsel in Beziehung steht.

3. Trotz normaler Luftsauerstoffzufuhr durch die Lunge und bei gemischter Kost kann aber auch infolge schlechter Blutbeschaffenheit die

Sauerstoffzufuhr zum Gewebe Not leiden. Hier muß man vor allem an die Anämien denken. *Collazo* sah bei Anämien den Milchsäuregehalt des Blutes ansteigen. Im Harne von anämischen Personen fand man ebenfalls Substanzen, die auf dysoxydative Vorgänge im Stoffwechsel hinweisen. (Eine ausführliche Literaturzusammenstellung zu allen hier behandelten Fragen über das Vorkommen mangelhaft oxydierter Substanzen im Harne bei Störungen der Luftsauerstoffzufuhr oder Störungen im Sauerstofftransport zu den Geweben findet sich bei *Blumenthal* „Der Harn", ferner in der Arbeit: Zur pathologischen Physiologie und Klinik der dysoxydativen Carbonurie.)

4. Bei an sich genügender Luftsauerstoffzufuhr zum Gewebe und bei normaler Ernährung mit gemischter Kost kann aber eine Oxydationsstörung im Körper vorhanden sein, weil die Oxydationsvorrichtungen im Körpermilieu nicht richtig funktionieren. Hier sind drei Fälle zu unterscheiden:

a) Durch Zufuhr von Giftstoffen kann der „interne Oxydationsmechanismus", wie wir ihn nennen wollen, im Sinne einer Leistungsherabsetzung gestört sein.

b) Durch den Mangel oder eine abnorme Mischung der stoffwechselregulatorischen Vitamine, Hormone, d. h. der Produkte der innersekretorischen Drüsen, und der Ionen kann diese Störung bewirkt werden.

c) Durch destruierende Prozesse an der Zelle, die zum Zelltode hinführen, könnte wohl die gleiche Störung bewirkt werden. In allen diesen Fällen a bis c werden wir eine Vermehrung des dysoxydablen Harnkohlenstoffs erwarten dürfen, eine Erhöhung des Quotienten C : N, also eine dysoxydative Carbonurie. Nur einzelne dieser Fälle sind heute schon durch Klarlegung des Harnchemismus genauer studiert, bei anderen wissen wir aus anderen Beobachtungen, daß sie zur Oxydationseinschränkung führen.

Zu a). Das bekannteste Beispiel hierzu ist die Blausäurevergiftung. Ferner hat *Gottschalk* bei Versuchen in vitro festgestellt, daß Zusatz von Phlorrhizin zu Zellbrei die Bildung des Acetaldehyds herabsetzt. Das ist mit Hilfe des *Neuberg*schen Abfangeverfahrens ermittelt worden. Bei der Phlorrhizinvergiftung liegt also eine Oxydationsherabsetzung vor. Daneben wird auch durch das Phlorrhizin das Nierenfilter geschädigt. Beide Ursachen wirken hier zusammen, um den Harnkohlenstoff in die Höhe zu treiben, ganz abgesehen von der zuckermobilisierenden Wirkung des Phlorrhizins. Wie sich bei der Phlorrhizinvergiftung der dysoxydable Harnkohlenstoff nach Abzug der Glykose verhält, ist unbekannt, aber Gegenstand laufender Untersuchungen im hiesigen Laboratorium.

Aber auch andere Giftstoffe kommen hier wahrscheinlich in Frage. An Produkte von Bakterien, Krebszellen u. a. wird man denken müssen. Bei Carcinom ist häufig die Harnmilchsäure vermehrt. Da nach den Versuchen von *Warburg* die Carcinomzelle selbst schon beträchtliche Mengen von Milchsäure bei ihrem Eigenstoffwechsel produziert, wäre es möglich, daß die Vermehrung der Harnmilchsäure hiermit zusammenhängt. Aber dann bleibt doch die Frage bestehen, warum der carcinomatöse Körper die ins Blut gelangende Milchsäure aus den Krebszellen nicht weiter verarbeitet. So scheint es doch, daß auch hier eine Störung im interen Oxydationsmechanismus vorliegt, die es erst ermöglicht, daß die Milchsäure im Harne erscheint, wobei es dahingestellt bleiben soll, ob ein Teil der vermehrten Harnmilchsäure nicht auch dem allgemeinen Stoffwechsel des Körpers entstammt. Wir sehen bei Carcinomkranken, bei denen der Verdauungskanal nicht vom Carcinom befallen ist, auch trotz forcierter

Ernährung eine fortschreitende Kachexie. In der Tat konnten nun französische Autoren, wir verweisen hier auf die Schriften von *Bouchard*, *Lambling* und andere, nachweisen, daß bei Carcinomkranken der Harnquotient C : N erhöht ist. In gemeinsam mit *Arnoldi* vorgenommenen Untersuchungen an Kranken der II. medizinischen Klinik der Charité haben wir ebenfalls bei Carcinompatienten, bei denen der Verdauungskanal frei von Krebs war, hohe Harnquotienten C : N feststellen können. Wir glauben somit berechtigt zu sein, auch beim Carcinomkranken die Stoffwechsellage der dysoxydativen Carbonurie annehmen zu dürfen.

Bei der chronischen, zur Kachexie führenden afebrilen Tuberkulose liegt die Sache ähnlich. Hier müssen wir an die Giftstoffe denken, die die Tuberkelbazillen an den Körper abgeben. Auch bei einem solchen Kranken fanden wir einen hohen Harnquotienten, wie die genannten französischen Forscher und auch *Plesch* früher schon feststellten.

Bei der Phosphorvergiftung fanden die französischen Autoren ebenfalls hohe Harnquotienten C : N.

Zu b). Wie durch Mangel oder abnorme Mischung der stoffwechselregulatorischen Vitamine der Harnquotient C : N erhöht werden kann, wird im nachstehenden ausführlich behandelt. Hinsichtlich der Hormone verweisen wir auf den Diabetes, hinsichtlich der Ionen auf die oben genannte Arbeit.

Zu c). Daß durch Prozesse in den Körperzellen, die zum Absterben führen, der interne Oxydationsmechanismus ebenfalls geschädigt werden wird, darauf wollen wir hier nur hinweisen; experimentelles Material steht uns zu diesem Punkte bis jetzt allerdings nur wenig zur Verfügung.

Für die Beurteilung der Normalwerte des Harnquotienten C : N ist es erforderlich, eine größere Zahl normaler Individuen derselben Art bei gleichmäßiger Ernährung zu untersuchen. Unter der Voraussetzung gleichmäßiger Ernährung zeigt der Quotient bei ein und denselben Individuen an verschiedenen Tagen gewisse Schwankungen, die aber beim Menschen und Hunde sich innerhalb verhältnismäßig enger Grenzen bewegen. Beim Menschen liegt bei gemischter Kost nach den vorliegenden Literaturangaben der Quotient in der Norm zwischen 0,6 und 0,9 im Durchschnitt und erreicht nur bei vornehmlicher Kohledydratkost Werte von 0,9 und etwas darüber, wie wir schon bei der Besprechung der alimentären Beeinflussung des Quotienten hörten.

Beim Hunde wechselt das Verhalten des Quotienten bei der gleichen gemischten Nahrung in der Norm von Tier zu Tier etwas. *Schimizu* hat bei seinen Hunden, die mit Weizeneiweiß, Reis und Schweineschmalz etwa im Verhältnis von 1 : 2 : 0,5 oder im Verhältnis von 1 : 1,2 : 0,5 oder auch 1 : 2,4 : 0,2 gefüttert wurden, durchschnittliche Quotienten von 0,6 bis 0,7 in der Norm gefunden. Bei dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Hunde lag bei qualitativ gleicher Ernährung im Verhältnis von 1 : 1,14 : 0,43 der Quotient bei 0,43. Bei einem anderen Hunde, der nur Weizeneiweiß und Reis neben Vitaminzulage, und zwar Eiweiß und Reis im Verhältnis von 1 : 1,8 bekam, lag der Quotient zwischen 0,5 und 0,6. Bei einem anderen

Hunde mit einer Ernährung mit Pferdefleisch lag der Quotient bei 0,6. Aus alledem geht hervor, daß man, wenn man keinen Vergleich zu dem Verhalten des Quotienten bei demselben Individuum in der Norm hat, nur dann von einer pathologischen Erhöhung des Quotienten sprechen soll, wenn die Erhöhung beträchtlich ist. So glauben wir berechtigt zu sein, beim erwachsenen Menschen unter der Voraussetzung gemischter Kost mit mittlerem Eiweißgehalt einen erhöhten Quotienten annehmen zu dürfen, wenn der Wert bei 1 oder darüber liegt.

Im Tierexperiment, in dem man von dem Normalzustande ausgeht und dann die Entwicklung eines pathologischen Zustandes Platz greifen läßt, muß man natürlich auch schon geringere Quotientsteigerungen berücksichtigen. Man soll aber auch hier sich nicht auf das Verhalten des Quotienten an einzelnen Tagen verlassen, sondern im allgemeinen nur den Durchschnittsquotienten aus mehrtägigen Perioden berücksichtigen. Dann ist man ohne Zweifel berechtigt, auch aus kleineren Quotientsteigerungen über den durchschnittlichen Versuchsanfangswert bindende Schlüsse zu ziehen. Hierbei werden die Schwankungen, die von Tag zu Tag auftreten, ausgeglichen. Diese Durchschnittswerte sind dann zuverlässig. In dieser Weise wurde in der vorliegenden Arbeit vorgegangen. So hat auch *Schimizu* seine Berechnungen gemacht. Beim Tierversuch, bei dem die 24stündige Harnmenge nicht mit Hilfe des Katheters gewonnen wird, und von dem Harne vom Tage zuvor auch manchmal erst am folgenden Tage zusammen mit der Harnmenge dieses Tages eine gewisse Menge entleert wird, ist ein solches Vorgehen bei der Berechnung überhaupt obligatorisch.

Wenn man aus dem Verhalten des Harnquotienten C : N Rückschlüsse ziehen will auf das Verhalten der Verbrennungen im Körper bei normaler Ernährung, dann muß man genau über die Größe der Nahrungsresorption orientiert sein. Denn schon eine leichte Verminderung der Resorption treibt ebenso, wie *Schimizu* gefunden hat, den Quotienten in die Höhe, wie absolute Nahrungskarenz. Die Ursache der Quotientsteigerung ist in diesem Falle eine ganz andere als in dem Falle, in dem der Quotient wegen Störung der inneren Oxydation bei normaler Nahrungsresorption in die Höhe geht. Bei der Unterernährung sinkt sofort ebensowohl die C-Ausscheidung, wie auch die N-Ausscheidung im Harne, aber die N-Ausscheidung sinkt stärker als die C-Ausscheidung. Das ist der Ausdruck für den Spartrieb des Körpers für Stickstoff und zugleich natürlich auch ein Ausdruck für die Einschränkung der Oxydationen aus dem gleichen Grunde. Es steigt also bei der Unterernährung der Quotient an bei sinkender C- und N-Ausscheidung durch den Harn. Ganz anders muß es sein, wenn die Nahrung in normalem Umfange resorbiert wird. Dann kann bei N-Gleichgewicht oder auch bei sich verstärkender N-Ausscheidung der Quotient nur

dann ansteigen, wenn gleichzeitig in abnormer Weise in steigenden Mengen C ausgeschieden wird. Hier ist also die *absolut* gesteigerte C-Ausfuhr ein sehr wesentliches Moment an der Erscheinung. Diese gesteigerte C-Ausfuhr kann aber nur, wenn es sich nicht um renale, mehr mechanisch bedingte Abflußvorgänge aus dem Blute oder der Lymphe, wie z. B. Eiweißausscheidung, Fettausscheidung (Chylurie) und anderes mehr handelt, auf einer mangelhaften C-Oxydation im Körper beruhen. Beim Hunger haben wir als Folge der Oxydationseinschränkung zunächst wenigstens eine C-Abnahme in den absoluten Werten. In den anderen Fällen aber haben wir als Folge der Oxydationsminderung eine C-Zunahme. Im ersteren Falle wird der gesamte Umsatz überhaupt eingeschränkt, im letzteren Falle wird der gesamte Umsatz nicht eingeschränkt oder sogar gesteigert, aber das umgesetzte Material wird nicht bis zum Ende in normalem Umfange verbrannt.

Da die bisherigen Kohlenstoffanalysen im Harne bei der Avitaminose mit Hilfe der Oxydation im flüssigen Medium mit Schwefelsäure und Bleichromat und nachfolgender titrimetrischer Bestimmung der Kohlensäure gemacht worden waren, lag uns daran, die Kohlenstoffbestimmungen auch einmal mit Hilfe der *Liebig-Dumas*schen Elementaranalyse durchzuführen, um die Ergebnisse, an die unsere weiteren Fragestellungen anknüpfen, noch mehr zu sichern. Denn die *Liebig-Dumas*sche Elementaranalyse wird in der Chemie als die einwandfreieste Methode betrachtet, während gegen die andere, oben genannte Methode Einwendungen erhoben werden. Da aber die Kohlenstoffbestimmungen im normalen und auch avitaminösen Harne wenigstens zu Beginn der Avitaminose in absoluter Beziehung gering sind — der Hundeharn enthält nur etwa 0,3 bis 1,0 Proz. Kohlenstoff — und da man bei der *Liebig-Dumas*schen Elementaranalyse bisher nur kleine Harnmengen von 0,4 bis 0,6 ccm verarbeiten kann, und da wir uns scheuten, den Harn einzudampfen, erhob sich zunächst die Frage, ob diese Methode auch bei der Analyse so kleiner Mengen Kohlenstoff noch hinreichend genau sei; das war bisher nicht bekannt. Zu diesem Zwecke haben zunächst *Kauffmann-Cosla* und *Leibowitz* unter der Leitung von Prof. *H. Pringsheim* im I. chemischen Institut der Universität Berlin die *Liebig-Dumas*sche Elementaranalyse auf ihre Leistungsfähigkeit geprüft. Die Ergebnisse dieser Prüfung finden sich in der Arbeit „Über Kohlenstoffbestimmung im Harne und in verdünnten wässerigen Lösungen" niedergelegt. Aus dieser Untersuchung ergibt sich, daß die genannte Methode auch bei diesen kleinen Mengen von Ausgangsmaterial und noch bei sehr viel geringeren Mengen Kohlenstoff, als sie der Harn enthält, bei sorgsamer Arbeit absolut genaue Resultate gibt.

Folgende Fragen waren es nun, die bei der Avitaminose zunächst studiert werden mußten. Es galt erstlich die Kohlenstoffausscheidung durch den Harn während längerer Perioden der Krankheit zu verfolgen und dadurch den Quotienten C : N zu ermitteln.

Zweitens handelte es sich um diese Frage. Wenn der Harnkohlenstoff bei der Avitaminose vermehrt ist, dann war es nach den obigen Ausführungen über die beobachteten Stoffwechselstörungen

bei der Avitaminose innerlich wahrscheinlich, daß diese Kohlenstoffvermehrung mit einer Oxydationsherabsetzung im intermediären Kohlehydratstoffwechsel zusammenhängt. So lag der Gedanke nahe, daß in der Art noch ein weiterer Beweis für die Abhängigkeit dieses Kohlenstoffs von der Oxydationsstörung am Kohlehydrat erbracht werden könnte, wenn der Nachweis zu führen wäre, daß durch eine Regulation des Kohlehydratstoffwechsels bei der Avitaminose durch Insulin die gesteigerte Harnkohlenstoffausscheidung zurückginge. Wenn eine solche Insulinwirkung bestand, dann könnte sie auch zu einem Studium der Bedingungen ihres Zustandekommens benutzt werden. Daraus ergab sich als dritte Fragestellung die Beeinflussung der Insulinwirkung durch die Ionen der Körperflüssigkeiten.

Mit dieser Untersuchung war verknüpft die Analyse der Harnasche. Dabei erhob sich nun eine vierte Frage, nämlich wie sich bei der Avitaminose die Ionenausscheidung verhält, und wie diese durch das Insulin beeinflußt wird.

Somit zerfiel die Arbeit in vier Teile:

I. Die Kohlenstoffausscheidung durch den Harn bei der Avitaminose und das Verhalten des Harnquotienten C : N.

II. Die Insulinwirkung auf den bei der Avitaminose in gesteigerter Menge zur Ausscheidung gelangenden dysoxydablen Harnkohlenstoff.

III. Der Einfluß der Ionen auf die Insulinwirkung am dysoxydablen Harnkohlenstoff.

IV. Das Verhalten der Harnasche bei der Avitaminose und bei der Insulinwirkung bei dieser Krankheit.

Alle diese Fragen wurden an einem Hunde studiert, der, soweit ausweislich der Versuchsprotokolle in den verschiedenen Abschnitten seiner Krankheit seine Gesamtbilanz durch Nahrungs-, Harn- und Kotanalyse untersucht wurden, eine tadellose Nahrungsresorption erkennen ließ. Nur an einzelnen wenigen Tagen, die in den Versuchsprotokollen verzeichnet sind, war eine leichte Indigestion bei dem Tiere vorhanden, die aber durch einen Fasttag jedesmal rasch behoben wurde.

Das etwa 5 Jahre alte Tier war vom 5. Februar bis 8. August 1925 in dem Versuch. Es starb am 6. August an seiner Avitaminose. Die Nahrung war in den ersten 10 Tagen, also vom 5. bis 14. Februar vitaminreich. Sie bestand aus:

	N-Gehalt g	Kaloriengehalt
40 g poliertem gewaschenen Reis	0,4130	164,0
35 g Weizeneiweiß	4,9560	143,5
15 g frischer Butter	—	122,5
60 ccm frischem Zitronensafte	—	—
1,5 g Salzgemisch	—	—
1000 ccm Wasser	—	—
Summe:	5,3690	437,0

Das Tier bekam bei einem Anfangskörpergewicht von 6,35 kg, also etwa 68 Cal pro Kilogramm. Bei dieser Nahrung blieb das Körpergewicht ziemlich konstant.

Vom 15. Februar an bekam das Tier die gleiche Menge Reis, Weizeneiweiß, aber an Stelle der 15 g Butter 15 g ausgelassenes Schweineschmalz, 1,5 g Salzgemisch und 1000 ccm Wasser. Vom 15. Februar an war also die Nahrung praktisch vitaminfrei, wenn wir auch von einer Autoklavisierung des Weizeneiweißes und des Reises absahen, da diese Substanzen, wie zahlreiche Beobachtungen an Ratten gelehrt hatten, so gut wie vitaminfrei waren.

Das Tier wurde also vom Anfang des Versuchs an mit demselben Nahrungskaloriengehalt ernährt und bekam bis zu seinem Tode nun täglich vom 15. Februar an immer genau das gleiche Futter, abgesehen von den Perioden, in denen wir die Änderungen der Salzzulage vornahmen.

Vom 15. Februar, d. h. vom 11. Versuchstage bis zum 30. Versuchstage am 6. März 1925 einschließlich, fraß das Tier seine Nahrung quantitativ auf. Am 7. März 1925 (31. Versuchstag) fraß es die Nahrung nicht ganz auf. Am 8. März (32. Versuchstag) ließen wir den Hund fasten; am 9. März (33. Versuchstag) fraß der Hund wieder gut. Vom 10. März (34. Versuchstag) bis zum 30. März (54. Versuchstag) fraß der Hund gut. Am 31. März (55. Versuchstag) verweigerte der Hund die Nahrung, fraß aber vom 1. April (56. Versuchstag) an wieder gut. Es änderte sich auch nichts, mit Ausnahme vom 7. April (122. Versuchstag), an dem einmal leichter Durchfall bestand, und mit Ausnahme der letzen 3 Tage vor dem Tode, an dem die Nahrungsaufnahme schlecht war.

Der Kot wurde in folgenden Perioden gesondert analysiert (Trockenkotbestimmung und N-Gehalt des Kotes):

	Durchschn. Trockenkotmenge pro Tag g	Durchschn. C-Gehalt pro Tag g	Durchschn. N-Gehalt pro Tag g
1. bis 10. Versuchstag (5. II. bis 14. II.) .	2,89	1,64	0,480
11. „ 20. „ (15. II. „ 24. II.) .	3,04	1,58	0,370
21. „ 30. „ (25. II. „ 6. III.) .	3,24	4,37	0,430
34. „ 43. „ (10. III. „ 19. III.) .	2,74	1,52	0,370
44. „ 53. „ (20. III. „ 29. III.) .	2,40	1,65	0,230
54. „ 63. „ (30. III. „ 8. IV) .	3,64	1,54	0,430
64. „ 70. „ (9. IV. „ 15. IV.) .	3,50	1,40	0,340
71. „ 77. „ (16. IV. „ 22. IV.) .	3,10	1,70	0,390
78. „ 98. „ (23. IV. „ 13. V.) .	3,20	1,64	0,220
101. „ 122. „ (17. V. „ 6. VI.) .	3,40 *)	—	0,203 *)
124. „ 140. „ (8. VI. „ 24. VI.) .	4,40 *)	—	0,190 *)

*) Analysen ausgeführt von *M. Gurwitsch*.

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich, daß das Tier in allen untersuchten Perioden die Nahrung in gleichmäßiger Weise resorbiert hat. Die täglichen Trockenkotmengen, ihr täglicher N- und C-Gehalt waren ungefähr gleich.

Am 1. Versuchstage bekam der Hund 68 Cal. pro Kilogramm Körpergewicht täglich, am 140. Versuchstage, an dem der Hund bereits 1,8 kg an Körpergewicht verloren hatte, bekam er fast 98 Cal. pro

Kilogramm täglich. Wir dürfen annehmen, daß der Hund auch noch nach dem 140. Versuchstage bis etwa zum 181. Versuchstage — er starb am 184. Versuchstage, d. h. am 174. Tage seiner vitaminfreien Ernährung —, weiter die Nahrung gut resorbiert hat, da in dieser Zeit keine Störungen in der Nahrungsaufnahme und auch klinisch keine Magen-Darmstörungen bei einem immer gleichmäßigen festen Stuhl nachweisbar waren. Am 179. Versuchstage (5. August 1925) wog der Hund 3,45 kg; *er hatte also im ganzen 2,9 kg, d. h. 46 Proz. an Körpergewicht verloren. Er wurde aber damals mit 126 Cal. pro Kilogramm Körpergewicht täglich ernährt, und es ist fast sicher nach dem Gesagten, daß er diese Nahrung auch resorbiert hat.*

Die Sektion dieses Hundes, die von Herrn Professor *Wätjen* gemacht wurde, hatte folgendes Ergebnis. Sie zeigte, daß der Hund an hochgradigem Fettschwund mit einer fast allgemeinen Atrophie mit skorbutischen Blutungen im Verdauungskanal gestorben ist, und daß sich am Pankreas und an der Leber keine anatomischen Veränderungen fanden, die die klinischen Erscheinungen erklären.

Sektionsbefund.

Leiche eines hochgradig bis zum Skelett abgemagerten Terrierhundes. Hochgradiger Schwund der Muskulatur an Brust und Bauch; subkutanes Fettpolster am Halse und an der Brust völlig geschwunden. An der Bauchwand das präperitoneale Fettgewebe noch in ganz dünner Lage vorhanden, von etwas gelblicher Färbung und ödematöser Beschaffenheit. Nach Eröffnung der Bauchhöhle liegen die Därme ohne Bedeckung von Netz vor. Das Netz ist in die linke obere Bauchgegend verlagert, ist fast fettfrei, durchsetzt von grauweißlichen Strängen. Die Milz sieht blaß aus, von normaler Größe; der untere Pol, besonders an der Rückseite ist schiefrig verfärbt. Das Mesenterium des Dünndarms ist frei von Fett, Lymphknoten nicht besonders geschwollen, grauweißlich gefärbt. In der Bauchhöhle in den abhängenden Teilen, klare, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit. Leber überragt den Rippenbogen nicht. Nach Eröffnung der Brusthöhle zeigt sich ein völlig fettfreies Mediastinum. In dem linken Pleuraraum keine Flüssigkeitsansammlung. Rechter Pleuraraum leer. Auf dem Herzbeutel ganz spärliche Reste ödematösen Fettgewebes. Im Oesephagus glasiger Schleim. Oesophagusschleimhaut blaß, Tonsillen klein, Trachea und Kehlkopf ganz blasse Schleimhaut. Nirgends Blutungen. Linke Lunge blaß rötlich. Nirgends Verdichtungen durchzufühlen. Rechter unterer Lungenlappen resistenter, in demselben dunkle rotgefärbte Abschnitte zu erkennen. Auf dem Durchschnitt sind die verfärbten und festeren Abschnitte etwas weniger lufthaltig und blutreich. Auch der Mittellappen zeigt fleckige Rötung, in den geröteten Abschnitten verminderter Luftgehalt, Oberlappen blaß, sonst wie links. Im Herzen, im rechten Vorhof Speckgerinnsel, im rechten Ventrikel Cruor. Im linken Vorhof Speckgerinnsel, im linken Ventrikel Cruor.

An den Herzklappen keine Besonderheiten, weder links noch rechts, keine Einlagerungen, Schilddrüse auffallend klein. Der linksseitige Lappen ist sehr atrophisch, ebenso der rechte, blaß. Milz von gewöhnlicher Größe, Pulpa blaß; deutliche Trabekel. Pankreas von normaler Größe. Beide

Nebennieren erscheinen auffallend weißlich, nicht gelblich. Nierenkapsel leicht abziehbar. Niere ziemlich blutreich in der Rinde, die Marksubstanz glatt. Blutungen nicht zu erkennen. Rechte Niere kleiner als die linke. Kapsel gut abziehbar, blasse Marksubstanz, gut durchblutete Rindensubstanz. Keine Blutungen. Im oberen Abschnitt des Dünndarms finden sich kleine, weißliche Einlagerungen in der sonst blassen Schleimhaut (Chylus ?). In den unteren Abschnitten ist die Schleimhaut ebenfalls blaß. etwas ödematös, in den noch tiefer liegenden Darmabschnitten ist die Schleimhaut herdförmig bedeckt mit braunschwärzlichen, schwer fortwischbaren Massen, die fleckförmig sind. Im Dickdarm zeigen sich starke rauchgraue Pigmentierungen um die Lymphknötchen. Der Darminhalt besteht aus festen, schwärzlich gefärbten Massen. Auch im Rektum zeigen sich schwarzbräunliche, der Schleimhaut ziemlich fest anhaftende Beläge. Uterus klein, Blase hat blasse Schleimhaut; sonst keine Besonderheiten.

Ovarien auch blaß, Magen gefüllt mit einer schwarzbräunlichen, schleimigen Flüssigkeit, die zum Teil zäh der Schleimhaut anhaftet. Auf dieser lange Fadenwürmer; Leber von dem üblichen lappigen Bau. Auf dem Durchschnitt keine Besonderheiten. Keine Blutungen in der Muskulatur der Extremitäten. Im Gehirn keine Blutungen, sonst normaler Befund. Knochenmark auffallend rot gefärbt, ödematös.

Diagnose. Hochgradigste Abmagerung. Schwund des Unterhautfettgewebes und Atrophie der Muskulatur an Brust und Bauch. Fast fettfreies Netz und Perikard bei gallertiger Atrophie der noch vorhandenen spärlichen Fettreste. Hämorrhagischer Magen- und Darminhalt. Keine Blutungen in der Schleimhaut. Lipoidarme Nebennierenrinde.

Mikroskopischer Sektionsbefund.

Leber. Leberzellen fettfrei, vielfach *Kupfer*sche Sternzellen verfettet, ziemlich grobtropfig. Verfettung der Gallengangsepithelien. Einzelne größere lipoidhaltige Zellen im periportalen Gewebe.

Sehr spärlich Hämosiderin in Leberzellen und *Kupfer*schen Sternzellen, kein Abnutzungspigment.

Niere. Fehlen jeglicher Verfettung in den Tubuli contorti. Einzelne Lipoidtropfen in Epithelien der Schleifenschenkel. Keine Eisenablagerungen.

Gehirn. Sehr regelmäßige Verfettung perivasculärer Zellen in Rinde und Mark.

Herz. Perikard frei von Fettgewebe. Keine Verfettung der Herzmuskelfaser; im interstitiellen Gewebe vereinzelte lipoidhaltige Zellen.

Milz. Atrophie. Starkes Hervortreten der Trabekel. In der ganzen Pulpa verstreut, stark verfettete Zellen. Reticulumzellen ? Kleine Lymphknötchen. Viel Hämosiderin in Pulpa und in Zellen der Trabekel.

Nebenniere. Sehr lipoidreiche Rinde.

Pankreas. Inseln intakt, desgleichen Drüsenparenchym. Im interstitiellen Gewebe einzelne lipoidhaltige Zellen.

Lunge. Ödem mit verfetteten, abgestoßenen Alveolarepithelien. Stärkere, subpleurale, herdförmige Lipoidzellenablagerung. Keine entzündliche Anschoppung.

Magen. Ohne Besonderheiten.

Darm. Spärlich verfettete Zellen im Interstitium.

Ovarium. Verfettete Stromazellen und Eizellen. (Die Anhäufung von Eisenpigment deuten auf den Blutzerfall hin. Die avitaminöse Anämie ist bekannt.)

Es ist das der vierte Hund, der bei avitaminöser Fütterung und guter Nahrungsresorption monatelang beobachtet werden konnte und die typische avitaminöse Kachexie bot, und der sich an die drei anderen, von *Bickel* in seiner Arbeit über den „inneren Hunger“ beschriebenen avitaminösen Hunde, bei denen während der ganzen Dauer ihrer Krankheit der Stoffwechsel genau untersucht worden war, anschließt.

I. Die Kohlenstoffausscheidung durch den Harn bei der Avitaminose und das Verhalten des Quotienten C : N.

In den ersten 10 Versuchstagen bei vitaminhaltiger Nahrung war das Tier in einer positiven N-Bilanz von durchschnittlich + 0,3839 g N. Der Quotient C : N war 0,43, entsprach also in diesem Falle dem Harnstoffquotienten. In den zweiten 10 Versuchstagen, d. h. in der ersten avitaminösen Dekade, ging die positive N-Bilanz mit leicht steigender N-Ausscheidung durch den Harn auf + 0,1177 g zurück. Der Quotient war im Durchschnitt 0,42. In den dritten 10 Versuchstagen blieb die N-Bilanz mit + 0,1262 g auf gleicher Höhe, die N-Ausscheidung durch den Harn war ebenfalls unverändert geblieben. Der Quotient war im Durchschnitt 0,46. Bisher hatte sich die Kohlenstoffausscheidung folgendermaßen verhalten. In der ersten Dekade (vitaminhaltige Fütterung) betrug sie 19,38 g, in der zweiten Dekade (vitaminfreie Fütterung) 20,5 g, und in der dritten 20,11 g. Sie hatte sich also von der zweiten Dekade, d. h. vom Beginn der avitaminösen Fütterung an, leicht erhöht und war in der dritten Dekade auf demselben Werte geblieben. Am 31. Versuchstage fraß das Tier seine ganze Ration nicht auf, wir ließen es daher am 32. Versuchstage fasten. Am 33. Versuchstage fraß es wieder das Futter quantitativ. Die vierte Dekade begann mit dem 34. Versuchstage. In der vierten Dekade änderte sich nun das Bild. Es nahm die N-Ausscheidung über 2 g zu, so daß die N-Bilanz schwach negativ wurde. Die Kohlenstoffausscheidung nahm über 7 g bis zu 27,77 g zu. Dadurch stieg der Quotient allmählich in der vierten Dekade an. Er betrug in der ersten Hälfte dieser Dekade 0,49, in der zweiten 0,62 und durchschnittlich in der ganzen Dekade 0,55; im Vergleich zu der ersten Dekade war also der Quotient allmählich um 0,12, d. h. um etwa 30 Proz. gestiegen, und zwar bei sich kontinuierlich vermehrender N- und C-Ausscheidung und bei Überwiegen der Steigerung der C-Ausscheidung.

Natürlich war bei diesem Hunde der Harn regelmäßig darauf kontrolliert worden, daß er frei von Zucker und Eiweiß war.

Durch diese Beobachtungen war also festgestellt, daß in den ersten Wochen der Avitaminose bei diesem Hunde der Quotient um etwa 30 Proz. gestiegen war, ohne daß eine Glykosurie bestand. Die gleiche Steigerung des Quotienten zeigte in den ersten 3 Wochen auch der avitaminöse Hund Nr. 3 von *Schimizu.* Der avitaminöse Hund Nr. 4 von *Schimizu* zeigte in den ersten 20 Tagen seiner Avitaminose eine Quotientsteigerung von etwa 20 Proz. Bei allen diesen Hunden, über die *Schimizu* berichtet, war die Nahrung qualitativ die gleiche, wie sie bei dem Hunde gegeben war, über den wir in der vorliegenden Arbeit berichten. Nur das prozentige Verhältnis von Eiweiß zu Fett, Kohlehydrat, zeigt bei den verschiedenen Hunden kleine Schwankungen. Ferner hatte *Schimizu* die ganze Nahrung autoklavisiert, während wir davon abgesehen hatten, da der polierte Reis und das Weizeneiweiß, wie das ausgelassene Schweineschmalz, höchstens nur Spuren von

Vitaminen enthalten, praktisch vitaminfrei sind, wie oben schon erwähnt wurde. Die lange Lebensdauer dieses Tieres hängt wohl vor allem mit seinem höheren Alter im Vergleich zu den *Yoshiue*schen Hunden zusammen, und an zweiter Stelle wohl auch mit der wochenlangen Insulinbehandlung, deren lebensverlängernden Einfluß bei der Avitaminose *Bickel* und *Collazo* gefunden hatten.

Bis zum 43. Versuchstage war der Quotient regelmäßig in den von 2 Tagen gesammelten Harnmengen bestimmt worden. Der Harn war immer bei kühler Temperatur aufbewahrt worden. Nun schlossen sich bei diesem Hunde andere Versuche an, über die in späteren Kapiteln berichtet wird. In der Folgezeit machte ich bei dem Hunde nur noch gelegentlich eine Quotientbestimmung in der 24stündigen Harnmenge unter denselben allgemeinen Versuchsbedingungen, unter denen das Tier bisher gehalten worden war.

Am 42. und 43. Versuchstage hatte der Hund bei einer C-Ausscheidung von 3,082 g pro Tag eine N-Ausscheidung von 4,8626 g, einen Quotienten von 0,63. Vom 55. bis 63. Versuchstage wurde nach einer voraufgegangenen Insulinperiode der Quotient täglich bestimmt. Im Durchschnitt dieser 9 Tage war der Quotient 0,7, am 63. Versuchstage bei einer C-Ausscheidung von 4,34 g und einer N-Ausscheidung von 4,9870 g war der Quotient 0,87.

Am 67. und 68. Versuchstage wurde wieder die Untersuchung nach einer voraufgegangenen Insulinperiode gemacht. Der Quotient lag bei 1,0.

Am 118. und 119. Versuchstage war die C-Ausscheidung 6,5 bzw. 6,1 g und die N-Ausscheidung 5,96 bzw. 5,09 g, und der Quotient lag bei 1,1.

Am 129. und 130. Versuchstage lag der Quotient im Durchschnitt bei 0,98 und vom 136. bis 138. Versuchstage bei 1,1.

Dann bekam der Hund wieder an einem Tage Insulin, und zwar am 148. Versuchstage (29. Juni). Der Quotient fiel an diesem Tage auf 0,53 (Analytiker: *van Eweyk*). Am nächsten Tage, 149. Versuchstag, lag der Quotient wieder höher bei 0,62 (Analytiker: *Leibowitz*) bei einer C-Ausscheidung von 3,37 und einer N-Ausscheidung von 5,43.

Am 148. Versuchstage (2. Juli) lag der Quotient bei 0,60 (Analytiker: *van Eweyk*), am 149. Versuchstage (3. Juli) war er 0,60 (Analytiker: *Leibowitz*) bei einer C-Ausscheidung von 3,39 g und einer N-Ausscheidung von 5,62 g. Am 153. Versuchstage (7. Juli) war die C-Ausscheidung 2,94 g und die N-Ausscheidung 5,1 g, der Quotient 0,57 (Analytiker: *Kauffmann-Cosla*). Am 155. Versuchstage (9. Juli) (Analytiker: *Leibowitz* und *Kauffmann-Cosla*) war die C-Ausscheidung 4,3 g, die N-Ausscheidung 4,5 g, der Quotient 0,9. Am 156. Versuchstage (10. Juli) war die C-Ausscheidung 1,65 g, die N-Ausscheidung 5,1 g, der Quotient 0,33 (Analytiker: *Leibowitz* und *Kauffmann-Cosla*). Wenn man den Durchschnittswert dieser beiden Versuchstage (150. und 151. Versuchstag) berechnet, so erhält man einen Quotienten von 0,62. Gerade diese Beobachtung zeigt aufs neue, was wir früher schon ausführten, daß man bei dem Versuche am Hunde, wenn man den Hund nicht katheterisiert, um die 24stündige Harnmenge mit Sicherheit zu erhalten, nur mit Durchschnittswerten aus größeren Perioden rechnen soll. Es ist aber doch sehr auffallend, daß der Hund überhaupt an einem Tage einmal einen Harn produzieren konnte mit einem Quotienten, der weit unter dem Harnstoffquotienten lag. Wir würden auf diese Beobachtung kein Gewicht legen, wenn nicht die C-Analyse an diesem Tage durch je zwei Doppelanalysen zweier verschiedener Untersucher in verschiedenen Instituten (Dr. *Kauffmann-Cosla* und Dr. *Leibowitz*) gemacht worden wäre.

und wenn nicht gelegentlich auch noch an anderen Tagen ein gleich tiefer Quotient beobachtet worden wäre. Man kann nur annehmen, daß bei unserem Hunde in diesem Spätstadium der Avitaminose, in dem ja auch nach den Beobachtungen von *Yoshiue* bei gleichzeitigen Resorptionsstörungen das Harnammoniak auf Kosten des Harnstoffs vermehrt sein kann, an einzelnen Tagen solche Störungen sich einstellten, aber wir glauben nicht, daß dadurch der Befund vollständig erklärt wird, sondern meinen eher, daß Ausscheidungsstörungen (?) besonders an den sehr C-reichen Harnverbindungen eine Rolle spielen.

In dieser Annahme werden wir um so mehr bestärkt, als dem Tage mit dem niedrigen Quotienten ein Tag mit außergewöhnlich hohem Quotienten voraufging, und wir sehen, daß im Durchschnitt der beiden Tage der Quotient bei etwa 0,6, also auf der durchschnittlichen Höhe dieser ganzen Periode lag.

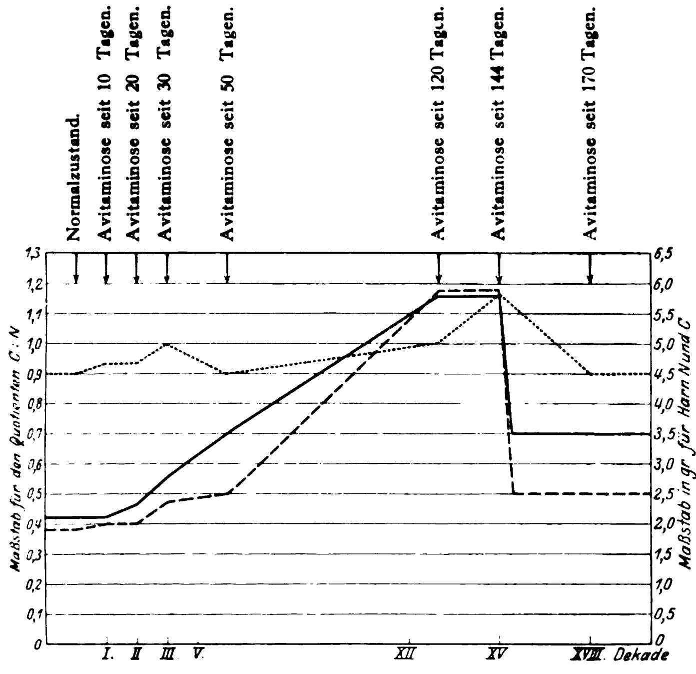


Abb. 1. Verlauf des Quotienten C : N bei dem avitaminösen Hunde.
·········· Harn-N. absolute Werte. ——— C : N. ----- Harn-C, absolute Werte.

Wenn man nun die bei dem Hunde während der ganzen Avitaminose in den verschiedenen Perioden erhaltenen Quotienten in einer Kurve (Abb. 1) einzeichnet, dann findet man, daß etwa vom 20. bis 60. Versuchstage ein sehr allmählicher Anstieg der Kurve von 0,42 bis 0,7 erfolgte. Dann erhebt sich die Kurve etwa am 70. Versuchstage bis zu etwa 1,0, bleibt auf dieser Höhe bis etwa zum 130. Versuchstage, sinkt dann wieder steiler ab und erreicht am 140. Versuchstage den Wert von etwa 0,6. Auf diesem Werte bleibt sie durchschnittlich bis zum Ende stehen, zeigt aber, wie gesagt, hier an einzelnen Tagen stärkere Schwankungen, zwischen höheren Quotienten z. B. 0,9 und tieferen Quotienten z. B. 0,3. Der Durchschnitt liegt aber

A. Loewy, der die Gaswechseluntersuchungen machte, im hiesigen Laboratorium beobachtet wurde.

So bleibt auch der Quotient in den Spätstadien der Avitaminose etwa auf gleicher Höhe, wie in den früheren Stadien, wenn die Quotientsteigerung sich einmal richtig eingestellt hat. Demnach haben wir also allen Grund, zu vermuten, daß in den mittleren Stadien der Avitaminose vorübergehend kohlenstoffreiche Substanzen in den Harn übertreten können, die nicht der unmittelbare Ausfluß und Ausdruck der intermediären dysoxydativen Stoffwechselstörung sind.

Jedenfalls lehrt dieser ganze Versuch, daß im Verlaufe der Avitaminose sich allmählich eine mäßige Steigerung des Harnquotienten C : N bei sich steigernder N- und C-Ausscheidung einstellt, und daß vorübergehend in den mittleren Stadien der Krankheit auch höhere Quotienten beobachtet werden, die zum Teil wenigstens durch einen gewissen Fettgehalt des Harns erklärt werden können und dann nicht der direkte Ausfluß der vorhandenen dysoxydativen Störung zu sein brauchen.

II. Die Insulinwirkung auf den bei der Avitaminose in gesteigerter Menge zur Ausscheidung gelangenden dysoxydablen Harnkohlenstoff.

Daß der bei der Avitaminose gestörte Umsatz der Kohlehydrate durch Insulin eine Regulation erfahren kann, war durch Versuche von *Bickel* und *Collazo* nachgewiesen worden. Es hatte sich gezeigt, daß eine vorhandene Hyperglykämie und Hyperlipämie bei dieser Krankheit durch Insulinbehandlung ebensowohl beseitigt werden, wie auch die Glykogenanreicherung der an Glykogen verarmten Leber erzielt werden kann. Ferner war festgestellt worden, daß der von der Störung des Kohlehydratumsatzes vornehmlich abhängige nervöse Symptomenkomplex mit seinen Krampferscheinungen bei avitaminösen Tauben durch Insulinbehandlung gebessert, und daß überhaupt das Leben der Tiere verlängert werden kann. Das Insulin kann also nicht die Vitamine ersetzen, aber es kann bestimmte Stoffwechselstörungen bei der Avitaminose therapeutisch günstig beeinflussen.

Nachdem bei unserem Hunde in der vierten Dekade des Versuchs der Quotient allmählich von 0,43 zu Beginn des Versuchs auf 0,55 in die Höhe gegangen war und im Durchschnitt der letzten 5 Tage der vierten Dekade den Wert 0,62 erreicht hatte bei leicht sinkendem Körpergewicht und gleichmäßiger Nahrungsresorption, injizierten wir dem Hunde in der fünften Dekade täglich Insulin subkutan. Er bekam am ersten Tage 2 Einheiten, an jedem der folgenden Tage 3 Einheiten Insulin, und zwar bei einem Körpergewicht von etwa 6000 g. Die Hälfte der täglichen Insulindosis wurde morgens eine halbe Stunde vor der Fütterung, die andere Hälfte abends injiziert. Bei der Betrachtung der Harnkohlenstoffmengen sieht man, wie deren absolute Werte allmählich zurückgehen. In der ersten Dekade war durchschnittlich täglich 1,9 g C im Harne vorhanden. In der vierten Dekade betrug der Wert 2,7 g, in der fünften, der Insulindekade, betrug der Durchschnittswert 2,1 g. Die N-Ausscheidung durch den Harn, die in der vierten Dekade täglich bei 5,0 g lag, ging in der fünften Dekade unter der Insulinbehandlung auf 4,9 zurück. In der ersten Dekade hatte sie 4,5 g betragen. Aber die in der vierten Dekade vorhandene leichte Negativität der N-Bilanz war einer schwach positiven N-Bilanz gewichen.

Harne vorlag, dann würde in dieser Periode der Quotient statt bei 1,0 etwa bei 0,8 liegen. Dadurch würde der Wert stark an den Wert derjenigen Quotienten angenähert werden, die der Hund etwa am 60. und dann wieder vom 140. Versuchstage an hatte. Später, als der Hund zwar auch noch höhere Quotienten bei etwa 0,9 hatte, und auch als die Quotienten noch tiefer lagen, wurde der Harn wiederholt auf Fett untersucht, ohne daß nennenswerte Fettmengen, durch die der Quotient wesentlich beeinflußt werden konnte, gefunden wurden.

Auffallend ist ferner, daß unter der Insulinwirkung mit der Senkung des Quotienten auch die Fettausscheidung zurückging. Wir haben früher schon darauf hingewiesen und wiederholen es hier noch einmal, daß wir die Ursache für das Auftreten des Fettes im Harne im lokalen Nierenprozeß vermuten. Die Hundeniere ist sehr fettreich. Nun führt die Avitaminose zur Fettmobilisation und auch, wie die skorbutischen Erscheinungen beweisen, zu einer Undichtigkeit der Zellverbände an den Kittsubstanzen. Hieran müssen wir vor allen Dingen denken. So kann es sehr wohl auch zu einer Lipurie aus diesen beiden Gründen kommen. Das Nierenfett gelangt in Lösung und fließt mit dem Harne ab, und gleiches geschieht mit dem Blutfett, das aus anderen Körperprovinzen stammt. Denn daß das Harnfett nicht nur aus den Nieren stammen kann, zeigt eine einfache Überschlagsrechnung unter der Voraussetzung, daß die Lipurie wochenlang besteht. Wenn nun durch das Insulin dieser Fettabfluß verringert wird, dann spricht das durchaus dafür, daß das Insulin, wenn auch nur vorübergehend, das Fett beeinflußt. Aus Versuchen von *Onohara* ist für die Avitaminose des Hundes bekannt, daß durch das Insulin die postdigestive Hyperlipämie gedämpft wird.

Unsere Ansicht über das Zustandekommen der vorübergehenden Lipurie bei unserem Hunde beansprucht nur den Wert einer Theorie, die uns die vorübergehende Lipurie erklären helfen soll. Aber auch während ihres Bestehens und erst recht nach ihrem Abklingen mit der gesamten Fettverarmung des Körpers blieb der Quotient bei dem Hunde immer noch erhöht. In dieser Erhöhung haben wir den Ausdruck der dysoxydativen Störung im Stoffwechsel des Tieres.

Die Lipurie fiel in die Zeit der Erhöhung des Quotienten auf etwa 1,0, also in die Zeit vom 70. bis 130. Versuchstage, in der der Hund 1 kg an Körpergewicht, d. h. täglich etwa 16 g verlor, also sicher den stärksten Fettverlust hatte. Wir haben die Lipurie erst genau chemisch festgestellt am 114. Versuchstage. So können wir nicht genau sagen, wann sie anfing. Mit der Fettverarmung des Körpers war sie abgeklungen. Diese Beobachtung von Fett im Harne eines Hundes besagt auch nicht, daß nun eine solche Lipurie regelmäßig bei der Avitaminose auftreten müsse. Es kann sich sehr wohl um eine gelegentliche Erscheinung handeln, wie ja auch andere Krankheitserscheinungen bei der Avitaminose trotz gleicher Versuchsanordnung bei einzelnen Tieren auftreten, bei anderen fehlen. Das hängt von den zufälligen Lokalisationen ab. Die skorbutischen Blutungen mit ihrem irregulären Auftreten sind hierfür das klassische Beispiel.

Daß die dysoxydative Störung bei einem solchen Hunde, nachdem sie in den ersten Wochen der Avitaminose einmal einen gewissen Grad erreicht hat, ungefähr im weiteren Verlauf der Krankheit bei diesem Grade stehen bleibt und sich progressiv nur wenig verschlimmert, dafür spricht auch das Verhalten des Gaswechsels bei einem solchen Tiere, wie es von *Tsuji* und

A. Loewy, der die Gaswechseluntersuchungen machte, im hiesigen Laboratorium beobachtet wurde.

So bleibt auch der Quotient in den Spätstadien der Avitaminose etwa auf gleicher Höhe, wie in den früheren Stadien, wenn die Quotientsteigerung sich einmal richtig eingestellt hat. Demnach haben wir also allen Grund, zu vermuten, daß in den mittleren Stadien der Avitaminose vorübergehend kohlenstoffreiche Substanzen in den Harn übertreten können, die nicht der unmittelbare Ausfluß und Ausdruck der intermediären dysoxydativen Stoffwechselstörung sind.

Jedenfalls lehrt dieser ganze Versuch, daß im Verlaufe der Avitaminose sich allmählich eine mäßige Steigerung des Harnquotienten C : N bei sich steigernder N- und C-Ausscheidung einstellt, und daß vorübergehend in den mittleren Stadien der Krankheit auch höhere Quotienten beobachtet werden, die zum Teil wenigstens durch einen gewissen Fettgehalt des Harns erklärt werden können und dann nicht der direkte Ausfluß der vorhandenen dysoxydativen Störung zu sein brauchen.

II. Die Insulinwirkung auf den bei der Avitaminose in gesteigerter Menge zur Ausscheidung gelangenden dysoxydablen Harnkohlenstoff.

Daß der bei der Avitaminose gestörte Umsatz der Kohlehydrate durch Insulin eine Regulation erfahren kann, war durch Versuche von *Bickel* und *Collazo* nachgewiesen worden. Es hatte sich gezeigt, daß eine vorhandene Hyperglykämie und Hyperlipämie bei dieser Krankheit durch Insulinbehandlung ebensowohl beseitigt werden, wie auch die Glykogenanreicherung der an Glykogen verarmten Leber erzielt werden kann. Ferner war festgestellt worden, daß der von der Störung des Kohlehydratumsatzes vornehmlich abhängige nervöse Symptomenkomplex mit seinen Krampferscheinungen bei avitaminösen Tauben durch Insulinbehandlung gebessert, und daß überhaupt das Leben der Tiere verlängert werden kann. Das Insulin kann also nicht die Vitamine ersetzen, aber es kann bestimmte Stoffwechselstörungen bei der Avitaminose therapeutisch günstig beeinflussen.

Nachdem bei unserem Hunde in der vierten Dekade des Versuchs der Quotient allmählich von 0,43 zu Beginn des Versuchs auf 0,55 in die Höhe gegangen war und im Durchschnitt der letzten 5 Tage der vierten Dekade den Wert 0,62 erreicht hatte bei leicht sinkendem Körpergewicht und gleichmäßiger Nahrungsresorption, injizierten wir dem Hunde in der fünften Dekade täglich Insulin subkutan. Er bekam am ersten Tage 2 Einheiten, an jedem der folgenden Tage 3 Einheiten Insulin, und zwar bei einem Körpergewicht von etwa 6000 g. Die Hälfte der täglichen Insulindosis wurde morgens eine halbe Stunde vor der Fütterung, die andere Hälfte abends injiziert. Bei der Betrachtung der Harnkohlenstoffmengen sieht man, wie deren absolute Werte allmählich zurückgehen. In der ersten Dekade war durchschnittlich täglich 1,9 g C im Harne vorhanden. In der vierten Dekade betrug der Wert 2,7 g, in der fünften, der Insulindekade, betrug der Durchschnittswert 2,1 g. Die N-Ausscheidung durch den Harn, die in der vierten Dekade täglich bei 5,0 g lag, ging in der fünften Dekade unter der Insulinbehandlung auf 4,9 zurück. In der ersten Dekade hatte sie 4,5 g betragen. Aber die in der vierten Dekade vorhandene leichte Negativität der N-Bilanz war einer schwach positiven N-Bilanz gewichen.

Der Quotient sank in den ersten 5 Tagen der fünften Dekade auf durchschnittlich 0,51 und in den zweiten 5 Tagen auf 0,34 und betrug im Dekadenmittel 0,43. Er war also von 0,55 in der vierten Dekade auf 0,43 gesunken und hatte damit den Wert erreicht, den er im Durchschnitt der ersten Dekade gehabt hatte, in der der Hund mit vitaminhaltigem Futter ernährt worden war.

Am 54. Versuchstage fraß der Hund sein Futter nicht vollständig auf. Am 55. Versuchstage aber war die Störung beseitigt. Nun wurde der Hund in der üblichen Weise vitaminfrei gefüttert. An den folgenden 9 Tagen war die Nahrungsaufnahme gut. Die N-Ausscheidung durch den Harn betrug im Durchschnitt täglich 4,95 g. Die N-Bilanz wurde wieder schwach negativ, und die C-Ausscheidung durch den Harn betrug durchschnittlich täglich 3,48 g in dieser sechsten Dekade, erreichte also einen Wert, wie er bisher, auch in der vierten Dekade mit 2,77 g nicht erreicht worden war. Bei sehr geringer Änderung in der N-Ausfuhr hatte sich also die C-Ausfuhr durch den Harn beträchtlich erhöht, ohne daß Glykosurie bestand. Der durchschnittliche Quotient in der sechsten Dekade 0,7 lag also beträchtlich über dem Anfangswert von 0,43 und dem Wert in der Insulindekade von 0,43.

Nunmehr gaben wir dem Hunde am 64., 65. und 66. Versuchstage je 4 Einheiten Insulin subkutan, morgens 2 Einheiten und abends 2 Einheiten Insulin. In diesen 3 Tagen betrug die durchschnittliche tägliche N-Ausscheidung 4,94 g gegenüber 4,95 in der vorhergehenden Dekade, die C-Ausscheidung betrug 2,03 gegenüber 3,48, der Quotient betrug durchschnittlich 0,45 gegenüber 0,7. Es war also durch die Insulinbehandlung bei ungefähr unveränderter N-Ausscheidung die C-Ausscheidung beträchtlich vermindert und der Quotient herabgedrückt worden.

Jetzt wurde der Hund 2 Tage, am 67. und 68. Versuchstage, in der üblichen Weise ohne Insulingabe gefüttert. Die N-Ausscheidung betrug 5,0, die C-Ausscheidung 5,0 g. Der Quotient war auf 1,0 gestiegen. Am 69. Versuchstage bekam der Hund 5 Einheiten Insulin bei einem Körpergewicht von 5750 g. Die Folge war, daß die N-Ausscheidung an diesem einen Tage auf 4,7 g, die C-Ausscheidung aber auf 1,98 g sank und der Quotient den niedrigen Wert 0,42 erreichte.

Am 118. und 119. Versuchstage war der Quotient im Durchschnitt 1,1, die C-Ausscheidung 6,3 g und die N-Ausscheidung 5,5 g. Am 120. und 121. Versuchstage bekam der Hund je 5 Einheiten Insulin. Der Quotient sank auf 0,46. Die N-Ausscheidung war durchschnittlich 5,3 g, also fast unverändert geblieben, die C-Ausscheidung 2,3 g, also auf fast ein Drittel gesunken und lag wieder bei den Anfangswerten in der allerersten Versuchszeit.

Am 129. und 130. Versuchstage war der Quotient im Durchschnitt wieder auf 0,98 gestiegen. Die C-Ausscheidung betrug im Durchschnitt 4,75 g und die N-Ausscheidung 4,8 g pro Tag. Am 131. Versuchstage bekam der Hund abermals 5 Einheiten Insulin; der Quotient C : N sank auf 0,3, die C-Ausscheidung war auf 1,2 g gesunken, die N-Ausscheidung bei 4,8 g stehengeblieben.

Am 136., 137. und 138. Versuchstage hatte der Hund einen durchschnittlichen Quotienten von 1,1 bei einer C-Ausscheidung von 5,6 g und einer N-Ausscheidung von 4,92 g pro Tag.

Am 139. Versuchstage bekam der Hund 6 Einheiten Insulin. Der Quotient sank prompt auf 0,42, die C-Ausscheidung auf 2,2, dagegen die N-Ausscheidung nur auf 5,28 g.

Es braucht nicht noch besonders betont zu werden, daß der Harn dieses Hundes in der ganzen Zeit keine positive *Fehling*sche Reaktion gab, also zuckerfrei war.

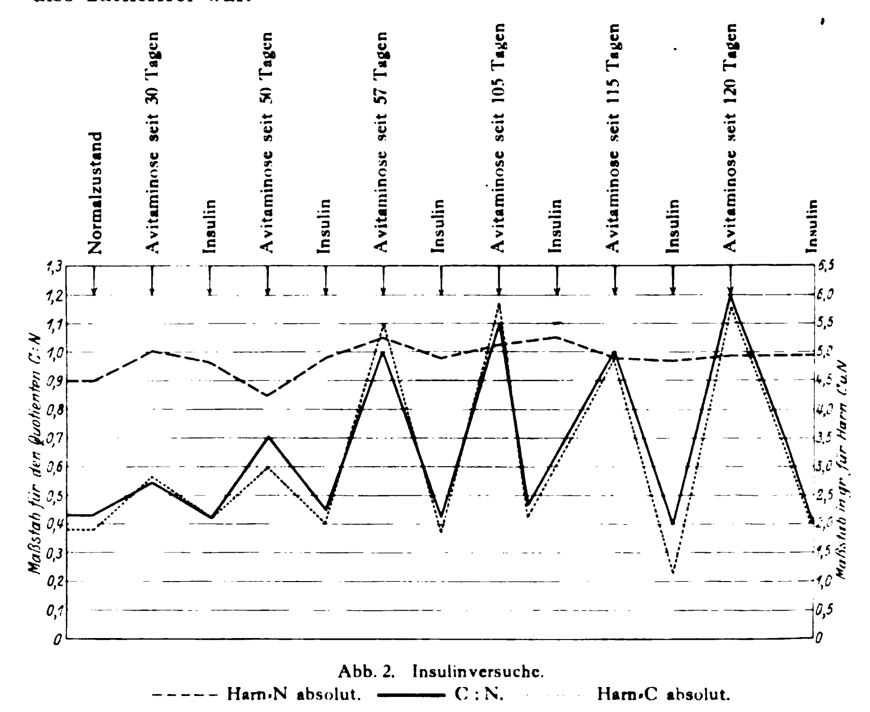


Abb. 2. Insulinversuche.
----- Harn-N absolut. ——— C : N. ······ Harn-C absolut.

Die Versuche zeigen, daß das Insulin den bei der Avitaminose pathologisch erhöhten Harnkohlenstoff herabsetzt. Da wir in dem Abschnitt über die Kohlenstoffausscheidung durch den Harn bei der Avitaminose auseinandergesetzt haben, daß die höchsten Quotienten bei diesem Hunde wahrscheinlich mitbedingt sind durch die Zumischung von Substanzen, die infolge lokaler Nierenprozesse im Verlaufe der Avitaminose und in gewissen Stadien der Krankheit wirksam werden, ist es auffallend, daß die Insulininjektion dennoch so prompt die C-Ausscheidung durch den Harn auch bei diesen hohen Quotienten auf die Norm herabgedrückt hat. In dem Abschnitt über die Fettausscheidung durch den Harn bei unserem Hunde ist ein Versuch mitgeteilt, der zeigt, daß in der Tat im Anschluß an die Insulininjektion auch der Fettgehalt des Harns sich verminderte. Gerade dieser Lipurie, die wir bei unserem Hunde in manchen Stadien der Krankheit in wechselnder Intensität sahen, muß in Zukunft besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden.

Daß durch die Insulininjektion bei der Avitaminose nicht nur der Kohlehydratstoffwechsel reguliert wird, sondern daß auch andere

Stoffwechselquoten eine Beeinflussung erfahren, das lehren folgende Beobachtungen.

Von besonderem Interesse ist nämlich die Betrachtung der Kurve für die N-Bilanz. Es geht aus dieser Kurve hervor, daß regelmäßig unter der Insulinwirkung die Negativität der N-Bilanz abnimmt, oder gar eine positive N-Bilanz erreicht wird. Es nimmt also unter der Insulinwirkung auch die N-Ausscheidung durch den Harn ab, aber die C-Ausscheidung nimmt verhältnismäßig viel beträchtlicher ab, deshalb wird der Quotient C : N trotz der leicht verminderten N-Ausscheidung niedriger. Wir können uns diese Wirkung auf die N-Bilanz so erklären, daß wir annehmen, es werde mit der verbesserten Fett- und Zuckerausnutzung unter der Insulinwirkung der anatomische Zerfall des Körpereiweißes gehemmt. Wir nehmen also für das Körpereiweiß eine indirekte Insulinwirkung an.

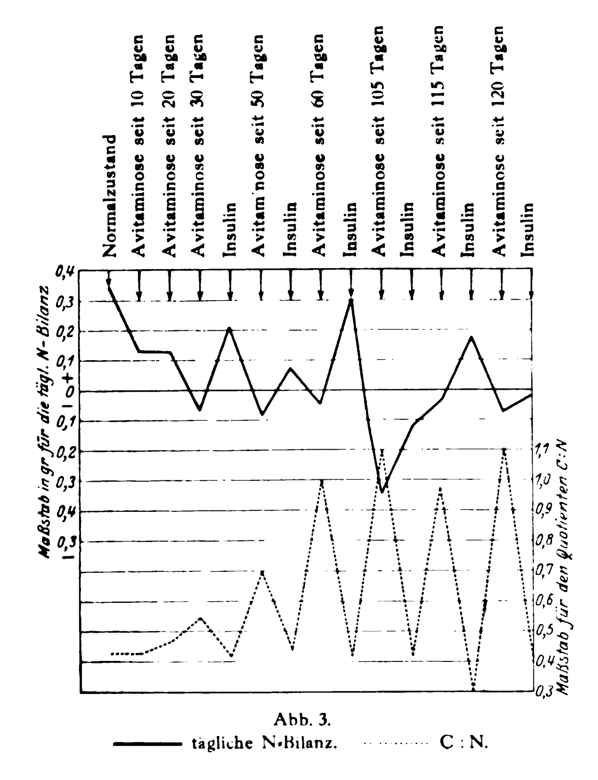


Abb. 3.

tägliche N-Bilanz. C : N.

Anhangsweise führen wir noch an, daß wir bei einem normalen Hunde bei Pferdefleischfütterung und einem Quotienten C : N von 0,55 keine Herabsetzung dieses Quotienten nach einer Insulininjektion von 4 Einheiten bei einem Körpergewicht des Tieres von etwa 6000 g beob-

achtet haben. Nach einer leichten Mast des Hundes sahen wir sogar, daß das Insulin die Harn-C-Ausscheidung steigerte, aber den Quotienten unverändert ließ.

Es scheint also, daß das Insulin nicht nur den aus dysoxydativen Gründen pathalogisch erhöhten Harnkohlenstoff redressieren, sondern auch im normalen Körper bei Mast eine Vermehrung der Harnkohlenstoffausscheidung herbeiführen kann; dabei wird aber auch entsprechend mehr Stickstoff ausgeschieden, so daß sich am Quotienten nicht viel ändert.

Ob der Ausfall der C-senkenden Insulinwirkung im normalen Körper gesetzmäßig ist oder nur bei solchen Tieren vorkommt, die an sich schon die Nahrung energetisch sehr vollkommen ausnnutzen, wie es z. B. der Hund tut, also der Ausfall der Insulinwirkung nur bei an sich schon niedrigen Quotienten vorkommt, darüber müssen weitere Versuche Aufklärung geben.

III. Der Einfluß des Mineralstoffgehaltes der Nahrung auf die Insulinwirkung am gesteigerten dysoxydablen Harnkohlenstoff bei der Avitaminose.

H. Zondek hatte gezeigt, daß bei der Gabe kleinster Insulindosen eine initiale Blutzuckersenkung auftritt, der in einer zweiten Phase eine Blutzuckersteigerung nachfolgt, und daß durch eine gleichzeitig mit der Insulininjektion vorgenommene Kalium- oder Magnesiuminjektion die Blutzuckersenkung vermindert oder überhaupt inhibiert wird. Durch Zufügung von Kalium zu der Calciuminsulinlösung kann der die Insulinwirkung modifizierende Kaliumeinfluß nach Maßgabe des Spannungsverhältnisses zwischen dem K- und Ca-Gehalt der Lösung mehr oder minder paralysiert werden.

E. Kylin hat dann den Einfluß kleiner Insulindosen auf den Blutzuckerspiegel beim nüchternen Menschen ohne und mit einer 1 Stunde vor der Insulininjektion erfolgten intravenösen Injektion von 0,15 g KCl oder $CaCl_2$ untersucht. Er fand, daß die voraufgehende Kaliuminjektion die Insulinwirkung verstärkte, während die Calciuminjektion sie abschwächte.

Alle diese Versuche zeigen, daß die Wirkung des Insulins auf den Blutzucker von dem Elektrolytensystem abhängt. Ich untersuchte nun den Einfluß des Mineralstoffgehaltes der Nahrung hinsichtlich der Wirkung des Insulins auf die Ausscheidung des dysoxydablen Harnkohlenstoffs an diesem avitaminösen Hunde.

Der Hund bekam bei diesen Versuchen die an sich äußerst mineralstoffarme Nahrung in qualitativ und quantitativ gleicher Zusammensetzung wie während des ganzen übrigen Versuchs. Als Salzzulage hatte er täglich 1,5 g Salzgemisch von folgender Zusammensetzung erhalten:

Natrium chloratum	100,00
Calcium phosphoricum	110,00
Magnesium citricum	65,00
Kalium chloratum	15,00
Ferrum citricum	10,00
Jodum purum	0,05
Kali jodati	0,1

Der Harnquotient C : N hatte in der Zeit vom 55. bis 63. Versuchstage bei 0,7, an den letzten 3 Tagen dieser Periode bei 0,8 gelegen. Am 67. und 68. Versuchstage lag der Quotient bei 0,9 bzw. 1,2. Als der Hund nun am 69. Versuchstage 5 Einheiten Insulin bei einem Körpergewicht von 5750 g subkutan erhalten hatte — diese Insulindosis entspricht der Dosis von 52 Insulineinheiten bei einem Menschen von 60 kg! — sank der Quotient auf 0,42. Die N-Ausscheidung hatte sich um etwa 6 Proz., die C-Ausscheidung aber um etwa 60 Proz. vermindert. Am 70. Versuchstage wurde dieser Versuch mit derselben Insulinmenge wiederholt; die N-Ausscheidung hielt sich auf fast gleicher Höhe wie am Tage zuvor, aber die C-Ausscheidung war noch etwas stärker gesunken, so daß der Quotient 0,31 betrug. Nunmehr wurde aus der Nahrung des Hundes bei sonst gleicher Kost und täglich gleicher Insulingabe von 5 Einheiten das Salzgemisch am 71., 72. und 73. Versuchstage fortgelassen. Die C-Ausscheidung ging rasch in die Höhe, ebenso die N-Ausscheidung, der Quotient C : N betrug im Durchschnitt dieser 3 Tage 0,68. An den folgenden beiden Tagen, am 74. und 75. Versuchstage, wurde bei im übrigen gleicher Versuchsanordnung der Nahrung 1,5 g NaCl zugelegt. Die Folge dieser Kochsalzzulage, die dem Gewichte nach der früheren Salzgemischzulage gleich war, war nun, daß die C-Ausscheidung sich etwas verminderte, ebenso die N-Ausscheidung, und daß der Quotient auf 0,52 sank. Man sieht also, daß das Insulin am stärksten den Quotienten senkt, wenn das komplette Salzgemisch gegeben wird, daß ein Ersatz dieses Salzgemisches durch die gleiche Gewichtsmenge Kochsalz die Insulinwirkung etwas abgeschwächt zur Anschauung kommen läßt, daß aber das vollständige Fehlen jeglicher Salzzulage zur Nahrung die Insulinwirkung stark behindert.

Am 76. Versuchstage erhielt das Tier als Mineralstoffzulage 0,5 g Zinksulfat und am 79. Versuchstage 1 g MgO mit der Nahrung. Der Quotient lag an diesen beiden Tagen bei 0,94 bzw. 0,98. Das zeigt, daß es nicht gleichgültig ist, welche Mineralstoffe der Körper erhält, damit er auf Insulin reagiere. Da aber ohne jegliche Salzzulage der Quotient bei der gleichen Insulingabe bei 0,68 lag und er nach der Zinksulfat- oder der Magnesiumzulage auf 0,98 hinaufschnellte, muß man daran denken, daß durch das Zink oder Magnesium der Oxydationsmechanismus der Zelle obendrein noch besonders geschädigt worden ist.

Wir hatten die Magnesiumgabe deshalb vorgenommen, weil wir dem Körper des Tieres möglichst viel Phosphor entziehen wollten.

Vom 78. bis 85. Versuchstage an gaben wir nun dem Tiere mit seiner üblichen Nahrung auch wieder täglich die 1,5 g des ursprünglichen Salzgemisches. Immer wurden täglich die 5 Einheiten Insulin weiter injiziert. Der Erfolg war, daß die Insulinwirkung nur ganz allmählich sich wieder einstellte. Vom 78. bis 83. Versuchstage an war der Quotient im Mittel 0,77, vom 84. bis 85. Versuchstage dann 0,43, hatte also jetzt erst wieder den Wert erreicht, den wir früher als den üblichen Insulinwert bei diesem Tiere kennengelernt haben. Aus alledem kann man vielleicht schließen, daß die Schädigung des Phosphorhaushaltes durch die einmalige Magnesiumgabe die Ursache war, aus der sich auch nach Gabe der Normalsalzmischung die Insulinwirkung erst so verspätet wieder einstellte. Um nun direkt zu prüfen, in welchem Umfange Phosphormangel in der Nahrung die Insulinwirkung beeinflußt, haben wir zunächst am 86., 87. und 88. Versuchstage dem Hunde ein Salzgemisch in der täglichen Menge von 1,5 g gegeben, das genau so zusammengesetzt war, wie das Normalgemisch, nur mit der einen

Ausnahme, daß statt der 110 g Calcium phosphoricum die äquivalente Menge von Ca, aber in der Form von CaO darin enthalten war. Der Quotient, der bei dem Normalsalzgemisch vom 83. bis 85. Versuchstage den Wert 0,45 erreicht hatte, stieg trotz der täglich wie bisher wiederholten Insulingabe von 5 Einheiten auf 0,8. *Daraus geht hervor, daß der P-Mangel in der Nahrung die Insulinwirkung hemmt.* An den beiden folgenden Tagen, am 89. und 90. Versuchstage, an denen wieder das Normalsalzgemisch verabreicht wurde, sank der Quotient sofort wieder auf 0,49. Nunmehr

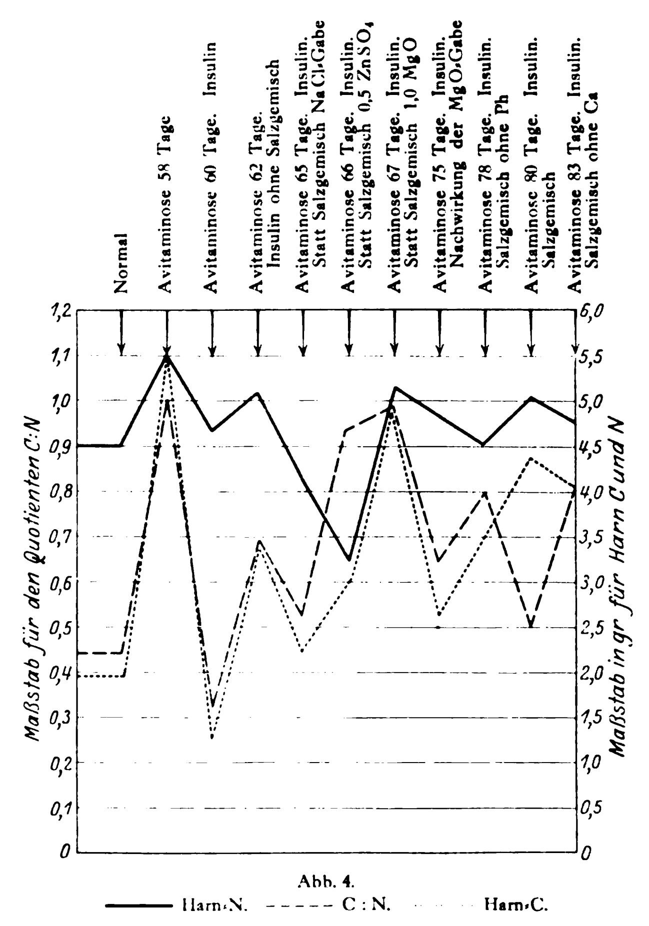


Abb. 4.

bekam der Hund vom 91. bis 97. Versuchstage täglich 1,5 g eines Salzgemisches, das genau wie das Normalsalzgemisch zusammengesetzt war, nur daß an Stelle des Calcium phosphoricum eine Phosphorsäurelösung gegeben wurde, so daß die in 110 g Calcium phosphoricum enthaltene P-Menge in äquivalentem Verhältnis in dem P der Phosphorsäure enthalten war. Der Quotient stieg trotz der fortgesetzten Insulingabe von 5 Einheiten täglich im Durchschnitt dieser Periode auf 0,86. *Es geht daraus hervor, daß auch der Ca-Mangel in der Nahrung die Insulinwirkung beeinträchtigt.*

Allerdings ist dazu einschränkend zu bemerken, daß der Ca-Mangel sich nur in den ersten Tagen auf die Insulinwirkung stark bemerkbar machte, daß an den späteren Tagen eine allmähliche Abnahme der Störung eintrat. Das kann bei dem großen Ca-Vorrat des Körpers, der bei Ca-Mangel der Nahrung zu einer Mobilisation der Kalkdepots schreitet, nicht überraschen. Beim Phosphormangel ist wohl das gleiche zu erwarten. Wir beobachteten aber hier den Hund nur 3 Tage und bekamen wohl aus diesem Grunde die Restitution der Störung durch Mobilisation der Phosphordepots nicht zu Gesicht.

Aus allen unseren Beobachtungen geht in Übereinstimmung mit den Befunden von *H. Zondek* und *Kylin* hervor, *daß die Insulinwirkung von dem Elektrolytensystem mit abhängt. Zondek* und *Kylin* studierten diese Verhältnisse am Blutzucker, ich untersuchte sie an der Wirkung des Insulins auf den dysoxydablen Harnkohlenstoff bei der Avitaminose. *Auch hier bei der Wirkung des Insulins auf den dysoxydablen Harnkohlenstoff besteht eine elektive Wirkung einzelner Ionen; unter diesen spielen Ca und P eine Hauptrolle. Die zur Insulinwirkung erforderlichen Einzelionen können nicht in beliebiger Weise gegenseitig ersetzt werden, z. B. gilt das für Ca und P.*

Wir bemerken noch, daß dann, wenn Insulin wegen Ionenstörungen nicht auf den Quotienten wirkt, die Ausscheidung des dysoxydablen Harnkohlenstoffs in ihren absoluten Werten höher liegt als bei der vorhandenen Insulinwirkung bei normaler Ionenfunktion. Auch die absoluten Werte für den Harn-N liegen in der Periode, in der das Insulin wegen der Ionenstörung nicht wirkt, höher als sonst. Die Quotientsteigerung kommt also bei absolut vermehrten C- und N-Ausscheidungen, aber relativ zum N überwiegender Steigerung der C-Ausscheidung zustande. Es ist also die Regulation des N-Stoffwechsels durch Insulin ebenfalls, wenn auch vielleicht indirekter als die des C-Stoffwechsels, an die Ionen geknüpft.

IV. Das Verhalten der Harnasche bei der Avitaminose und einigen klinischen Krankheitsfällen von dysoxydativer Carbonurie und der Einfluß der Insulinbehandlung darauf.

Wir haben bei unserem Hunde bis zum 61. Versuchstage regelmäßig an den drei letzten Tagen einer Dekade die Gesamtasche des Harns untersucht.

Die Methode war folgende. Es wurden 20 ccm Harn in einen Quarztiegel gebracht, verdampft bis zur Trockne auf dem Wasserbade, es wurden einige Tropfen konzentrierter Salzsäure zugesetzt, dann geglüht im Sauerstoffgebläse bis zu konstantem Gewicht. Der Gewichtsunterschied zwischen dem leeren Quarztiegel und dem Quarztiegel mit der Asche gibt den Aschengehalt von 20 ccm Harn an. Unsere Zahlen beziehen sich auf die Tagesharnmengen.

Bis zum 30. Versuchstage lag der Aschewert bei 0,3 und der C-Wert des Harns bei 2,0 g. Vom 38. bis 40. Versuchstage stieg der Aschewert auf 0,4 g und der C-Wert auf 3,0 g. An den letzten 3 Tagen der ersten Insulinperiode, nämlich vom 51. bis 53. Versuchstage, war der Aschewert

auf etwa 0,28 g und der C-Wert auf 1,8 g gesunken. Vom 61. bis 63. Versuchstage, nachdem der Hund vom 54. Versuchstage an ohne Insulin gehalten worden war, war die Ausscheidung auf etwa 0,5 g wieder gestiegen, ebenso die C-Ausscheidung auf 4,0 g. Daran schloß sich wieder eine Insulinperiode vom 64. bis 68. Versuchstage. Der Harnaschegehalt lag im Durchschnitt bei 0,3 g, der C-Gehalt bei 2,0 g. In der Folgezeit wurden diese Versuche noch mehrmals wiederholt. *Immer zeigte sich, daß unter der Insulinwirkung mit der Abnahme der C-Ausscheidung auch die Ascheausscheidung durch den Harn sich verminderte.*

Bis zum 70. Versuchstage hatte der Hund immer neben dem gleichen Futter die gleiche Menge desselben Salzgemisches erhalten.

Mit der fortschreitenden Avitaminose nahm nun zunächst, ohne daß Insulin gegeben worden war, die Ascheausscheidung durch den Harn zu. Sie war von etwa 0,3 g am Ende der ersten Dekade auf etwa 0,4 g am Ende der vierten Dekade gestiegen. Das stimmt im allgemeinen mit den in der Literatur vorliegenden Erfahrungen über das Verhalten der Mineralstoffausscheidung und des Mineralstoffwechsels bei der Avitaminose überein, soweit dieser an einzelnen Mineralstoffen untersucht ist (vgl. *Bickel*, „Das Wesen der Avitaminose"). Das Körpergewicht des Tieres hatte sich in den ersten 40 Tagen des Versuchs etwas über 200 g vermindert. Die N-Ausscheidung durch den Harn war langsam in die Höhe gegangen. Es hatte also ein gewisser Weichteilschwund eingesetzt, und damit geht auch, wie sich aus den Beobachtungen von *Morinaka* aus dem hiesigen Laboratorium ergibt, z. B. eine vermehrte P-Ausscheidung einher. *Serebrijski*, *Vollmer* und *Zadek* fanden den Phosphatspiegel des Blutes bei avitaminösen Tieren abnorm niedrig.

So werden auch andere Salze in vermehrter Menge ausgeschieden, und das drückt sich dann in einer Vermehrung der Gesamtasche des Harns aus.

Unter der Insulinwirkung sinkt nun der Aschegehalt des Harns. Hier handelt es sich um eine vorübergehende Retention von Aschebestandteilen im Körper. Wenn wir z. B. die Aschewerte vom 51. bis 53. Versuchstage unter der Insulinwirkung addieren, so erhalten wir den Wert 0,8611 g, addieren wir die Aschewerte an den folgenden 3 Tagen, an denen der Hund kein Insulin bekam, so erhalten wir 1,4834 g Asche. Addieren wir nun die Werte dieser 6 Tage, so bekommen wir 2,3445 g Asche. An den 3 Tagen vor der Insulininjektion, also vom 38. bis 40. Versuchstage, hatte der Hund 1,2081 g Asche. Wenn man jetzt die Durchschnittswerte pro Tag berechnet, dann erhält man für die Zeit vor der Insulininjektion täglich 0,4020 g und für die 3 Tage der Insulinbehandlung mit den ihnen folgenden drei insulinfreien Tagen den Wert der täglichen Ascheausscheidung von 0,3907 g Asche. Die Werte sind also fast identisch. *Daraus ergibt sich, daß durch das Insulin eine vorübergehende Ascheretention zustande gebracht wird, daß aber die retinierte Asche sofort wieder nach Aufhören der Insulinwirkung ausgeschieden wird.* Für Phosphat, Ca und NaCl ist das gleiche Verhalten unter der Insulinwirkung mit der nachträglich erhöhten kompensatorischen Ausscheidung am normalen Körper von anderen Autoren gefunden worden (Literatur bei *Grevenstuk* und *Laqueur*).

Durch diese Beobachtungen über die Mineralstoffretention unter der Insulinwirkung findet auch die Beobachtung über die Wasserretention unter Insulineinfluß eine Erklärung (Literatur bei *Buttenwieser*).

Vom 64. bis 66. Versuchstage wurden 0,9256 oder täglich 0,3085 g Asche eliminiert unter Insulinwirkung und an den folgenden 2 Tagen

(67. und 68. Versuchstag) ohne Insulinwirkung 1,3476 oder täglich 0,6738 g Asche. Also auch hier war die Ascheausscheidung unter dem Insulin geringer als im Durchschnitt der vorangehenden Zeit, in der sie, wie oben gezeigt wurde, bei 0,4 g lag; aber sie war an dem Tage nach der Insulininjektion stark vermehrt, betrug nämlich 0,67 g.

Alles das deutet darauf hin, daß wir es bei der Insulinwirkung auf die Ascheausscheidung mit einer vorübergehenden Retention von Aschebestandteilen zu tun haben.

Vom 71. bis 73. Versuchstage bekam der Hund nun Insulin ohne Salzgemisch. Es wurde also jetzt zum ersten Male bei diesem Tier etwas an dem Mineralstoffgehalt der Nahrung verändert, diese mineralstoffarm gemacht. Die Folge war, daß die tägliche Ascheausscheidung zurückging. Wir müssen nun zunächst die Periode vom 69. bis 70. Versuchstage, in der der Hund noch die übliche Salzzulage neben Insulin erhielt, vergleichen mit der Periode vom 71. bis 73. Versuchstage, in der der Hund das Insulin ohne Salzzulage bekam. Vom 69. bis 70. Versuchstage betrug die tägliche Aschemenge bei Insulingabe 0,4168 g, vom 71. bis 73. Versuchstage bei Insulinzugabe aber ohne Salzzulage 0,2568 g.

Das Insulin hatte also am 69. und 70. Versuchstage den Aschewert nicht mehr unter den früheren Durchschnittswert in längerer, insulinfreier, avitaminöser Periode herabgedrückt, der damals, nämlich am Ende der vierten Dekade bei 0,4 g lag. Es ist wahrscheinlich, daß mit der Zeit sich dieser Grundwert überhaupt geändert hatte, daß die Ascheausscheidung an sich weiter zugenommen hatte, entsprechend dem Fortschreiten der Avitaminose, daß nur diese Zunahme wegen der immer wiederholten Insulinversuche von uns nicht beobachtet werden konnte. Jedenfalls nahm nun bei dem Wegfall der alimentären Salzzulage und bei fortgesetzter Insulinzugabe die Harnasche stark ab und sank auf 0,2568 g pro Tag im Durchschnitt. Als nunmehr am 74. und 75. Versuchstage der Hund anstatt der 1,5 g Salzgemisch, die er bis zum 70. Versuchstage einschließlich erhalten hatte, 1,5 g NaCl bekam, betrug die Ascheausscheidung im Durchschnitt täglich 0,5160 g. Sie schnellte also sofort in die Höhe, trotz der Weitergabe des Insulins in alleiniger Abhängigkeit von der NaCl-Zulage, und die tägliche, durchschnittliche Ascheausscheidung mit 0,5160 g entsprach fast genau der theoretisch berechneten Asche von 1,5 g NaCl gleich 0,51 g Asche bei Veraschung im Sauerstoffstrom.

Es soll natürlich nicht behauptet werden, daß in diesem Falle nur Kochsalz und überhaupt kein anderes Salz durch den Harn eliminiert worden waren, denn es wird ja auch ein Teil des Kochsalzes mit dem Kot ausgeschieden worden sein, aber jedenfalls wurde doch die Harnasche in ihrer überwiegenden Menge durch die Kochsalzasche gedeckt. Das Insulin hat also in verstärktem Maße *nicht* mehr zur Salzretention geführt. Das spricht auch dafür, was wir schon in einem früheren Abschnitte dieser Arbeit ausführten, daß es für die Insulinwirkung nicht gleichgültig ist, über welche Art von Ionen der Körper gebietet. Da trotzdem an den Kochsalztagen die C-Ausscheidung durch den Harn herabgesetzt war, und da, wie früher gezeigt wurde, für diese Insulinwirkung auf den Kohlenstoff unter anderem vor allem Ca und P erforderlich sind, so kann man wohl annehmen, daß diese Ionen aus dem Körperbestandmaterial genommen worden sind.

Als nun am 76. Versuchstage der Hund als alimentäre Salzzulage 0,5 g Zinksulfat erhielt, ging die Ascheausscheidung auf 0,2 g an diesem Tage zurück und erhob sich am folgenden, 77. Versuchstage, an dem 1,0 g MgO gegeben wurden, auf 0,5 g. Obschon der Hund mit 1,0 g MgO weniger Salz erhalten hatte als vorher, als er doch 1,5 g Salzgemisch oder Kochsalz erhielt, war die Ascheausscheidung eine recht beträchtliche, denn sie lag wohl sicher an der oberen Grenze des Wertes, den der Hund auch ohne die fortwährende Insulingabe und bei alimentärer Zulage von 1,5 g Salzmischung gezeigt haben würde. In Wahrheit bekam das Tier ja dauernd das Insulin weiter und jetzt vom 78. bis 85. Versuchstage wieder 1,5 g Salzgemisch täglich. Die Ascheausscheidung lag in dieser Periode durchschnittlich bei 0,36 g pro Tag. Sie war also fast so hoch wie in der vierten Dekade, als der Hund überhaupt noch kein Insulin erhalten hatte. Als das Tier nämlich vom 98. Versuchstage an kein Insulin mehr bekam, aber seine 1,5 g Salzgemisch täglich erhielt, betrug die Ascheausscheidung am 106. und 107. Versuchstage etwa 0,5 g. Wir können also annehmen, daß der Hund in der Krankheitsperiode, die bei den jetzt zu besprechenden Salzversuchen in Frage kommt, ohne Insulin aber bei täglicher Gabe von 1,5 g des Salzgemisches ungefähr 0,5 g Harnasche täglich gehabt haben würde. Die Harnasche betrug aber vom 78. bis 85. Versuchstage bei der Gabe von 1,5 g Salzgemisch und Insulin täglich nur etwa 0,36 g. Das zeigt auch wieder, daß unter der Insulinwirkung Asche mußte retiniert worden sein.

Als nun der Hund vom 86. bis 88. Versuchstage 1,5 g Salzgemisch ohne P erhielt, änderte sich an der Ascheausscheidung nichts. Auch blieb die Ascheausscheidung auf unveränderter Höhe, als das Tier vom 89. bis 90. Versuchstage wieder 1,5 g des vollständigen Salzgemisches bekam. Als aber nunmehr der Hund vom 91. bis 97. Versuchstage 1,5 g Salzgemisch ohne Ca täglich erhielt — immer natürlich unter gleichzeitiger Insulingabe —, stieg vorübergehend die Ascheausscheidung beträchtlich bis auf etwa 0,6 g an und sank dann wieder noch während der Ca-freien Fütterungszeit auf 0,36 g, d. h. auf den alten Wert. Im Durchschnitt dieser ganzen Zeit war aber die Ascheausscheidung auch noch erhöht, sie betrug nämlich etwa 0,44 g pro Tag. In der auf den 97. Versuchstag folgenden Periode, in der nun kein Insulin mehr gegeben wurde, aber das Tier täglich wieder seine 1,5 g des vollständigen Salzgemisches erhielt, wurden Werte notiert, die bei 0,5 g lagen.

Der Calciummangel, und zwar nur der Ca-Mangel und nicht der P-Mangel in der Nahrung hatte also bewirkt, daß das Insulin nicht mehr so stark zur Salzretention führte, wie es bei der Gabe des vollständigen Salzgemisches der Fall war. Dauraus geht hervor, daß für die Wirkung des Insulins auf die Hemmung der Ascheausscheidung die Anwesenheit gewisser Mengen von Ca erforderlich ist.

Als nun das Tier ohne Insulin und mit dem vollständigen Salzgemisch in der üblichen Dosis in der Folgezeit ernährt wurde, als also gewissermaßen der reine Avitaminosezustand wieder hergestellt wurde, schnellte die Ascheausscheidung sofort wieder in die Höhe. Am 106. und 107. Versuchstage lag sie bei 0,5 g. Am Anfang des Versuchs hatte sie 0,3 g betragen.

Mit der fortschreitenden Avitaminose erhöhte sich also allmählich die Ascheausscheidung. Über das weitere Verhalten der Ascheausscheidung bei der Avitaminose wollen wir erst weiter unten berichten. Wir möchten

an dieser Stelle einige Beobachtungen an Patienten mit dysoxydativer Carbonurie einfügen, die ebenfalls zeigen, wie unter der Insulinbehandlung mit dem Zurückgehen der Kohlenstoffausscheidung durch den Harn sich auch die Harnasche vermindert.

Wir fügen zunächst die Analysenbefunde bei einem Patienten als Beispiel hier an.

Datum	Harn-C g	Harnasche g	Bemerkungen
1. V. 1925	7,94	2,3578	Ohne Insulin
2. V.	11,00	5,1832	„ „
3. V.	8,26	5,3200	„ „
4. V.	12,50	5,4000	„ „
5. V.	6,86	3,7380	Mit Insulin
6. V.	6,80	1,4900	„ „
7. V.	7,50	1,6420	„ „

Dasselbe haben wir auch noch an einigen anderen Fällen mit dysoxydativer Carbonurie unter der Insulinwirkung gesehen (siehe die Tabelle VI).

Bei diesen Patienten handelte es sich um folgende Krankheitszustände:

Fall 1: Dysoxydative Carbonurie mit Polyneuritis.

Fall 2: Dysoxydative Carbonurie, abwechselnd mit Abmagerung und Fettleibigkeit kombiniert.

Fall 3: Diabetes mellitus.

Fall 4: Dysoxydative Carbonurie mit Polyneuritis und Abmagerung.

Wir kehren nach dieser Abschweifung wieder zu unseren Beobachtungen an dem avitaminösen Hunde zurück.

Vom 168. bis 173. Versuchstage (23. bis 28. Juli), an denen der Quotient C : N bei dem Hunde wieder bei etwa 0,6 lag, also einen Wert hatte, wie am Ende der vierten Dekade, als wir mit den Insulinversuchen begannen, betrug die Ascheausscheidung durchschnittlich 0,3 g; sie war also etwas geringer als am Ende der vierten Dekade, wo sie bei 0,4 g lag.

Ein Parallelismus zwischen der Größe der Harnasche und der Abnahme des Körpergewichts besteht nicht, selbst nicht in den Perioden des stärksten Körpergewichtsabfalles. Das rührt wohl daher, daß hier vor allem das aschefreie Fett eingeschmolzen wird. Die Vermehrung der Harnasche hängt wohl in erster Linie zusammen mit der Einschmelzung des Protoplasmas und des Knochens. Dabei ist ferner zu berücksichtigen, daß, je kleiner das Tier durch den fortschreitenden Gewichtsverlust wird, auch um so mehr die absoluten Werte der Harnasche zurückgehen.

Wenn man die Asche ausrechnet, die auf 100 g des jeweiligen Körpergewichts ausgeschieden wird, dann findet man unter Zugrundelegung des durchschnittlichen, täglichen Körpergewichts und der durchschnittlichen täglichen Harnaschemengen innerhalb der einzelnen Dekaden, soweit in ihnen Aschebestimmungen gemacht wurden, folgende Werte:

1. Dekade:	0,0052 Proz.	Asche	kein Insulin . . .	0,43 C : N
2. „	0,0049 „	„	„ „ . . .	0,43 C : N
3. „	0,0052 „	„	„ „ . . .	0,46 C : N
4. „	0,0065 „	„	„ „ . . .	0,55 C : N
5. „	0,0087 „	„	Insulin	0,43 C : N
6. „	0,0119 „	„	kein Insulin . . .	0,70 C : N
14. „	0,0071 „	„	„ „ . . .	0,60 C : N

Aus dieser Zusammenstellung ersieht man, daß von der vierten Dekade an, in der auch die Quotientsteigerung auftrat, die Ascheausscheidung sich merklich vermehrte, daß sie aber auch in der 14. Dekade zwar nicht mehr ganz so hoch wie früher, aber doch noch wesentlich höher war, als am Anfang, nämlich in den ersten drei Dekaden des Versuchs. Ferner sieht man, daß durch eine chronische Insulinwirkung die Steigerung der Ascheausscheidung nicht gebremst wird, daß also das Insulin, wie wir früher schon ausführten, nur zu vorübergehenden Ascheretentionen, aber offenbar nicht zu Aschefixationen führt. Gerade die Insulinperiode mit ihrem niedrigen Quotienten und ihrer hohen Ascheausscheidung zeigt, daß die bei der Avitaminose sich einstellende Demineralisation des Körpers auch weiter läuft, obschon die Verbrennung des Kohlenstoffs durch Insulin gebessert wird, daß also zwischen der Demineralisation und der Oxydationsstörung und überhaupt wohl der Störung des Kohlehydratstoffwechsels bei der Avitaminose kein innerer Zusammenhang besteht.

Die Vermehrung der Ascheausscheidung hängt mit der Störung der assimilatorischen und stoffixierenden Vitaminfunktion zusammen, hat aber nichts direkt mit der oxydativen Funktion zu tun. Daß mit der Quotienterhöhung im Verlaufe der Avitaminose im allgemeinen auch die Erhöhung der Harnasche einhergeht, ist nur eine zufällige Koinzidenz zweier Erscheinungen, nämlich der mit der fortschreitenden Avitaminose sich allmählich verstärkenden Oxydationsstörung am Kohlehydrat und der sich parallel damit, aber nicht direkt abhängig von ihr allmählich verstärkenden Herabsetzung der Assimilation und Steigerung der Dissimilation.

Nun führt das Insulin zu einer vorübergehenden Ascheretention. Denn wie wir früher schon gezeigt haben, braucht das Insulin eine gewisse Ionenkonzentration, um überhaupt wirken zu können. So kommt es bei der Insulinwirkung zur vorübergehenden Ascheretention, die aber keine Aschefixation ist, weil entweder bei kurzfristiger Insulinbehandlung an den darauf folgenden Tagen die Asche in einer so gesteigerten Menge im Harn erscheint, daß dadurch die voraufgegangene Retention wieder ausgeglichen wird, oder bei langfristiger Insulinbehandlung sich trotz der Insulinbehandlung, nachdem eine gewisse höhere Ionenkonzentration einmal erreicht ist, doch der avitaminöse Körper mit seinem verstärkten Freiwerden der Ionen auch eine erhöhte Aschemenge verliert.

An dieser Stelle ist es von Interesse, darauf hinzuweisen, daß nicht nur bei der avitaminösen Kachexie, sondern auch bei anderen Kachexien, und dann natürlich auch bei der Rachitis und dem Skorbut die Ascheausscheidung vermehrt ist. Bei den chronischen Kachexien auf tuberkulöser, besonders aber auf carcinomatöser Basis ist, wie wir und andere Autoren fanden, auch der Quotient C : N gesteigert. So offenbart sich auch an dem Verhalten der Ascheausscheidung die prinzipielle Ähnlichkeit der bei diesen verschiedenen Kachexieformen vorhandenen Stoffwechselstörung (Literatur siehe bei *Blumenthal*, „Der Harn“).

Wir haben nun neben der gesamten Harnasche auch einzelne Bestandteile derselben untersucht, und zwar den Phosphor und das Calcium. Bei der Avitaminose tritt, wie wir früher an anderer Stelle schon ausführten, eine gewisse Vermehrung in der Phosphor- und Kalkausscheidung ein, und es ist eine verminderte Ansatzfähigkeit für Kalk bei ihr nachweisbar (*Miyadera*); für den Phosphor läßt sich das gleiche nachweisen und außerdem nehmen die anorganischen Phosphorverbindungen auf Kosten der organischen Phosphorverbindungen (Lecithin usw.) im Körper zu.

Wir sahen nun bei unserem avitaminösen Hunde, daß am 60. Versuchstage eine P_2O_5-Ausscheidung von 0,08875 g bestand. Am 63. Versuchstage war der Wert 0,0720 g. Als der Hund vom 64. bis 66. Versuchstage Insulin bekam, ging die P_2O_5-Ausscheidung allmählich bis auf 0,0551 g am 66. Versuchstage zurück. Als nun das Insulin am 67. und 68. Versuchstage fortgelassen wurde, stieg wieder die P_2O_5-Ausscheidung auf 0,0775 g am 67. Versuchstage und auf 0,0940 g am 68. Versuchstage an. Da die P_2O_5-Ausscheidung vor der Insulingabe durchschnittlich pro Tag 0,08037 g, während der Insulingabe 0,06130 g und nach der Insulingabe 0,08470 g betrug, also nach der Insulingabe P_2O_5 nur in der Menge ausgeschieden wurde, wie vor der Insulingabe, muß der Körper unter der Insulinwirkung mehr Phosphor *fixiert* gehalten haben.

Als nun der Hund vom 71. bis 73. Versuchstage wieder Insulin bekam, aber keine Mineralstoffzulage zur Nahrung, also phosphorarm ernährt wurde, sank die Gesamtascheausscheidung von 0,41 g auf etwa 0,25 g im Durchschnitt, aber die P_2O_5-Ausscheidung blieb bei 0,0545 g, d. h. auf einem Werte, der ganz dicht bei dem Werte liegt, den die P_2O_5-Ausscheidung unter der Insulinwirkung und mineralstoffreichen Ernährung früher gezeigt hatte (0,06130 g). Die Gesamtascheausscheidung hatte sich also bei der mineralstoffarmen Nahrung unter der Insulinwirkung um etwa 39 Proz., die P_2O_5-Ausscheidung aber nur um etwa 9,8 Proz. vermindert. Das beweist, daß unter der Insulinwirkung die prozentuale P_2O_5-Ausscheidung im Verhältnis zu der Ausscheidung der gesamten Harnasche viel größer ist ohne Salzzufuhr durch die Nahrung. Also findet offenbar durch das Insulin ein großer P_2O_5-Verbrauch statt. *Daraus geht mit Wahrscheinlichkeit weiter hervor, daß die Insulinwirkung auf Phosphor angewiesen ist.* Auch an dem 76. und 77. Versuchstage, als der Hund mit der Nahrung keinen Phosphor, sondern an Mineralstoffen nur Zinksulfat bzw. Magnesia usta bekam, hielt sich die P_2O_5-Ausscheidung auf fast unveränderter Höhe. Als endlich der Hund vom 86. bis 88. Versuchstage mit der Nahrung alle Salze mit Ausnahme von Phosphor und außerdem natürlich sein Insulin erhielt, blieb die P_2O_5-Ausscheidung immer auf derselben Höhe. In der Periode vom 78. bis 85. Versuchstage, als der Hund neben dem Insulin mit der Nahrung alle Mineralstoffe, also auch Phosphor erhielt, lag die P_2O_5-Ausscheidung durchschnittlich bei 0,0491 g; theoretisch sollte die Ausscheidung etwa 0,06130 g sein, wie in früheren Zeiten, als der Hund alle Salze mit Insulin bekommen hatte. Da aber diese jetzigen Versuche mit Gabe von allen Salzen und Insulin zu einer Zeit gemacht wurden, als der Hund vorher längere Zeit (7 Tage) ohne Phosphorgabe ernährt worden war, und in der er trotzdem täglich größere Phosphormengen unter dem Insulineinfluß ausschied, muß man annehmen, daß der an Phosphor durch die Insulinwirkung verarmte avitaminöse Körper eine gewisse Phosphormenge wieder retinierte, um die durch das Insulin erzeugten Phosphorverluste auszugleichen. Als nun der Hund vom 89. bis 90. Versuchstage nach einer zweiten, aber sehr kurzen phosphorfreien Periode von 3 Tagen wieder neben dem Insulin alle Salze, also auch Phosphor mit der Nahrung erhielt, stieg die P_2O_5-Ausscheidung durchschnittlich auf 0,653, also auf den theoretisch erwarteten Wert.

Wir haben somit an diesem Hunde festgestellt, daß unter der Insulinwirkung Phosphor in gesteigerter Menge verbraucht und deshalb bei großem Phosphorangebot mit der Nahrung retiniert und darum durch den Harn

weniger ausgeschieden wird, bei kleinem Phosphorangebot aber Phosphor im Körper mobilisiert und darum in gesteigerter Menge ausgeschieden wird im Verhältnis zur Einfuhr und im Verhältnis zur gesamten Harnasche.

Ferner sahen wir in einigen Versuchen vom 6. bis 8. Mai, also am 91. bis 93. Versuchstage, daß Calciummangel in der Nahrung bei im übrigen normalem Salzgehalt der Nahrung (normales Salzgemisch minus Ca) auch unter der Insulinwirkung die Phosphorausscheidung herabdrückt. Es scheint also, als ob der Phosphor versucht, das Calcium bei seiner auxiliären Insulinwirkung zu ersetzen.

Methodik.

Der Stickstoff wurde nach *Kjeldahl* bestimmt. Der Kohlenstoff wurde nach der *Liebig-Dumas*schen Elementaranalyse bestimmt. Alle Analysen wurden doppelt ausgeführt, mit Ausnahme von einzelnen wenigen, die durch ein x bezeichnet sind. In den Tabellen finden sich nur die Mittelwerte von gut übereinstimmenden Doppelanalysen. Gelegentlich wurden auch vierfache Kohlenstoffbestimmungen an demselben Harne von verschiedenen Untersuchern gemacht; abgesehen von Dr. *O. Kauffmann-Cosla* beteiligte sich auch daran in liebenswürdiger Weise Herr Professor *H. Pringsheim* und Herr Dr. *Leibowitz* vom I. Chemischen Institut der Universität. Über die Ascheanalysen ist im Text schon das Nötige gesagt. Die Phosphorbestimmungen wurden mit Hilfe der Uranylacetatmethode gemacht.

Schlußfolgerungen.

1. Bei der Avitaminose kommt es trotz praktisch quantitativer Resorption einer gemischten und auf das Anfangskörpergewicht des Tieres vor Eintritt in die Avitaminose berechneten kalorisch suffizienten Nahrung beim Hunde zu einer progressiven Körpergewichtsabnahme, die zu einem fast vollständigen Fettschwund des Körpers, Anämie und atropischen Erscheinungen Veranlassung gibt, und die in dem vorliegenden Falle zu etwa 48 Proz. Körpergewichtsverminderung geführt hat (skorbutische Magen-Darmstörungen zeigten sich erst in dem vorliegenden Falle im Terminalstadium der Krankheit).

2. Bei der Avitaminose steigt der dysoxydable Harnkohlenstoff allmählich an, und bei anfangs gleichbleibender, sich später verstärkender N-Ausfuhr geht der Harnquotient C : N langsam in die Höhe. In einem mittleren Stadium der Krankheit nimmt, wahrscheinlich durch Fettbeimengungen zum Harn verursacht, der Quotient stärker zu, liegt aber gegen Ende der Krankheit wieder bei den etwas niedrigeren, aber doch noch pathologisch gesteigerten Werten in den früheren Krankheitsperioden. Die bei der Avitaminose sich einstellende geringe Vermehrung der Milchsäure im Harne erklärt den gesteigerten Quotienten bei weitem nicht. Der in dieser Arbeit mitgeteilte Versuch ist der erste, bei dem das Verhalten des Harnquotienten C : N bei der Avitaminose durch alle Stadien der Krankheit verfolgt worden ist.

Tabelle 1. C : N bei der Avitaminose.

Versuchstag	Körpergewicht g	Harnmenge*) ccm	Harn-N g	Harn-C g	C : N	Getrockneter Kot g	Kot-N g	Kot-C g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz	Nahrungszusammensetzung pro Tag
1.	6350	280	4,7238	1,9624	—	—	—	—	—	—	—	40 g Reis 35 g Weizeneiweiß 15 g Butter 1,5 g Salzgemisch 1 Liter Aq. dest. 60 cm³ frischer Citronensaft
2.	6325	525	4,9141	1.5342	—	—	—	—	—	—	—	
3.	6250	560	4,9783	2,1032	—	—	—	—	—	—	—	
4.	6150	350	4,9900	2,0874	—	—	—	—	—	—	—	
5.	6140	660	4,1234	2,0048	—	—	—	—	—	—	—	
6.	6100	360	4,9600	1,8747	—	—	—	—	—	—	—	
7.	6200	440	4,1000	1,9999	—	—	—	—	—	—	—	
8.	6150	465	4,0234	1,9238	—	—	—	—	—	—	—	
9.	6300	600	3,1721	1,8001	—	—	—	—	—	—	—	
10.	6250	490	5,1000	2,0960	—	—	—	—	—	—	—	
		Summe:	45,0851	19,3865	0,43	28,94	4,8	16,4238	49,8851	53,69	+ 0,3839	
11.	6520	400	4,5082	1,9082	—	—	—	—	—	—	—	40 g Reis 35 g Weizeneiweiß 15 g Schweineschmalz 1,5 g Salzgemisch 1 Liter Aq. dest.
12.	6250	620	4,9077	1,9284	—	—	—	—	—	—	—	
13.	6300	600	5,2380	2,0462	—	—	—	—	—	—	—	
14.	6380	650	4,3052	2,4217	—	—	—	—	—	—	—	
15.	6250	800	4,8860	1,1946	—	—	—	—	—	—	—	
16.	6220	410	5,1862	2,0688	—	—	—	—	—	—	—	
17.	6320	400	4,9844	2,2432	—	—	—	—	—	—	—	
18.	6400	430	4,8060	2,1021	—	—	—	—	—	—	—	
19.	6250	480	4,3942	2,0701	—	—	—	—	—	—	—	
20.	6250	480	4,6844	1,8070	—	—	—	—	—	—	—	
		Summe:	48,8103	20,5003	0,42	30,46	3,7023	15,88	52,5126	53,69	+ 0,11774	
21.	6320	680	4,7650	1,842		—	—	—	—	—	—	40 g Reis 35 g Weizeneiweiß 15 g Schweineschmalz 1,5 g Salzgemisch Dest. Wasser
22.	6200	625	4,7650	1,842		—	—	—	—	—	—	
23.	6200	590	4,8000	2,014	0,41	—	—	—	—	—	—	
24.	6200	640	4,8000	2,014		—	—	—	—	—	—	
25.	6500	430	4,9691	2,102		—	—	—	—	—	—	
26.	6330	1100	4,9691	2,102		—	—	—	—	—	—	
27.*)	6250	720	4,5123	1,986		—	—	—	—	—	—	
28.*)	6320	650	4,5123	1,986	0,43	—	—	—	—	—	—	
29.	6280	800	4,9813	2,112		—	—	—	—	—	—	
30.	6170	740	5,9813	2,112		—	—	—	—	—	—	
		Summe:	48,0554	20,112	0,46	32,41	4,3721	14,2713	52,4275	53,69	+ 0,12625	

*) In den Tabellen ist immer die Harnmenge + Spülwasser angegeben. In den Fällen, in denen die Tabellen eine absolute Übereinstimmung der C- oder N-Werte des Harns an zwei aufeinanderfolgenden Tagen anzeigen, sind die Analysen in der 48stündigen Harnmenge gemacht worden.

Tabelle I (Fortsetzung). (C : N bei der Avitaminose.)

Versuchs-tag	Körper-gewicht g	Harn-menge ccm	Harn-N g	Harn-C g	C : N	Getrock-neter Kot g	Kot-N g	Kot-C g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz	Nahrungszusammen-setzung pro Tag
34.	6000	730	5,1782	2,279		—	—	—	—	—	—	40 g Reis
35.	5900	490	5,1782	2,279		—	—	—	—	—	—	35 g Weizeneiweiß
36.	5910	580	5,1024	2,439	0,49	—	—	—	—	—	—	15 g Schweine-schmalz
37.	6150	330	5,1024	2,439		—	—	—	—	—	—	1,5 g Salzgemisch
38.	6190	770	4,9832	2,988		—	—	—	—	—	—	Aqua dest.
39.	6195	810	4,9832	2,988		—	—	—	—	—	—	
40.	6100	725	5,2081	3,299		—	—	—	—	—	—	
41.	6180	700	5,2081	3,299	0,62	—	—	—	—	—	—	
42.	6100	1100	4,8626	3,082		—	—	—	—	—	—	
43.	6000	610	4,8626	3,082		—	—	—	—	—	—	
		Summe:	50,6690	27,774	0,55	27,46	3,7261	15,2386	54,3861	53,69	- 0,06961	
54.					Resorptionsstörung							
55.	5450	300	3,8640	3,2700	—	—	—	—	—	—	—	40 g Reis
56.	5700	190	4,6880	3,0220	—	—	—	—	—	—	—	35 g Weizeneiweiß
57.	5730	530	4,4520	2,2843	—	—	—	—	—	—	—	15 g Schweine-schmalz
58.	5600	620	6,5600	4,1106	—	—	—	—	—	—	—	1,5 g Salzgemisch
59.	5950	380	5,0430	2,1310	—	—	—	—	—	—	—	Aqua dest.
60.	5550	710	4,9700	3,7160	—	—	—	—	—	—	—	
61.*)	5600	500	5,1700	3,9892	—	—	—	—	—	—	—	
62.*)	5650	520	4,8040	4,0550	—	—	—	—	—	—	—	
63.*)	5650	300	4,9870	4,3400	—	—	—	—	—	—	—	
		Summe:	44,5980	30,9181	0,7	36,42	4,2916	13,8692	48,8896	48,00	— 0,098	
111.	4930	680	5,1082	4,986	0,97	—	—	—	—	—	—	40 g Reis
113.	4980	610	5,9600	6,500	1,1	—	—	—	—	—	—	35 g Weizeneiweiß
114.	4940	600	5,0900	6,100	1,19	—	—	—	—	—	—	15 g Schmalz
115.	4900	620	4,9700	6,030	1,2	—	—	—	—	—	—	1,5 g Salzgemisch
136.	4800	600	5,3000	5,900	1,1	—	—	—	—	—	—	Aqua dest.
138.	4750	680	4,4600	5,950	1,3	—	—	—	—	—	—	
		Summe:	30,8882	35,466	1,14	21,0	2,4	9,6	33,2882	32,2140	— 0,180	

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuchstag	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-N g	Harn-C g	C:N	Getrockneter Kot g	Kot-N g	Kot-C g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz	Nahrungszusammensetzung pro Tag
144.	4270	530	5,71	2,994	0,53	—	—	—	—	—	—	Nahrung wie bisher
145.	4250	640	5,43	3,37	0,62	—	—	—	—	—	—	
147.	4200	480	4,22	2,56	0,6	—	—	—	—	—	—	
148.	4200	520	5,62	3,39	0,6	—	—	—	—	—	—	
154.	4220	450	4,55	4,45	1,0	—	—	—	—	—	—	
155.	4150	360	5,10	1,64	0,3	—	—	—	—	—	—	
165.	3980	300	4,2	1,38	0,33	—	—	—	—	—	—	
166.	3900	300	4,116	2,83	0,64	—	—	—	—	—	—	
176.	3800	350	4,1160	2,408	0,58	—	—	—	—	—	—	

Tabelle II (Insulinversuch bei der Avitaminose).

I. Insulinversuch.

Versuchstag	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-N g	Harn-C g	C:N g	Getrockneter Kot g	Kot-C g	Kot-N g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz g	Nahrungszusammensetzung pro Tag	Bemerkungen
44.	6030	890	4,8704	3,2160		—	—	—	—	—	—	40 g Reis 35 g Weizeneiweiß 15 g Schweineschmalz 1,5 g Salzgemisch Aqua dest.	2 E. Insulin
45.	6000	670	4,9304	2,8742		—	—	—	—	—	—		3 E. "
46.	6180	490	4,9672	2,2890	0,51	—	—	—	—	—	—		3 E. "
47.*)	6100	700	5,0398	2,2376		—	—	—	—	—	—		3 E. "
48.*)	6060	590	4,8768	1,9760		—	—	—	—	—	—		3 E. "
49.	6020	490	4,6648	1,7430		—	—	—	—	—	—		3 E. "
50.	6030	760	5,3200	1,7491		—	—	—	—	—	—		3 E. "
51.	6070	830	4,2031	1,6072	0,34	—	—	—	—	—	—		3 E. "
52.	5870	770	6,2680	1,8326		—	—	—	—	—	—		3 E. "
53.	6030	400	4,0180	1,5150		—	—	—	—	—	—		3 E. "
	Summe:		49,1585	21,0397	0,43	24	16,4787	2,2900	51,5885	53,69	+ 0,2240		

Tabelle II (Fortsetzung).

Versuchstag	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-N g	Harn-C g	C : N	Getrockneter Kot g	Kot-N g	Kot-C g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz g	Nahrungszusammensetzung pro Tag	Bemerkungen
					II. Insulinversuch.								
64.*)	5600	800	5,0721	1,9132	—	—	—	—	—	—	—	40 g Reis 35 g Weizeneiweiß 15 g Schweineschmalz 1,5 g Salzgemisch Aqua dest.	4 E. Insulin
65.	5800	370	4,8523	1,9720	—	—	—	—	—	—	—		4 E. "
66.*)	5650	810	4,9024	2,1938	—	—	—	—	—	—	—		4 E. "
	Summe:		14,8279	6,0790	0,45	10,5	1,0300	4,2	15,8568	16,107	+ 0,0834		
					III. Insulinversuch.								
67.	5800	710	5,008	4,453	—	—	—	—	—	—	—		
68.	5500	940	5,100	5,719	—	—	—	—	—	—	—		
	Summe:		10,116	10,172	1,0	7,0	0,686	2,8	10,798	10,738	– 0,003		
69.	5650	430	4,7234	1,9842	0,42	3,5	0,343	1,4	5,0664	5,3690	+ 0,3026		5 E. Insulin
118.*)	4930	520	5,96	6,5	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher	
119.	4900	520	5,09	6,1	—	—	—	—	—	—	—		
	Summe:		11,05	12,6	1,1	6,8	0,896	—	—	10,7380	– 0,434		
					IV. Insulinversuch.								
120.	4700	586	6,12	3,016	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher	5 E. Inselin
121.	4650	625	4,50	1,600	—	—	—	—	—	—	—		5 E. Insulin
	Summe:		10,62	4,616	0,43	6,8	0,896	—	11,516	10,7380	+ 0,389		
					V. Insulinversuch.								
129.	—	470	4,6	4,500	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher	
130.	4520	340	5,0	5,000	—	—	—	—	—	—	—		
	Summe:		9,6	9,500	0,98	8,8	0,38	—	9,9800	10,7380	+ 0,3790		
131.	4500	360	4,8	1,2	0,3	4,4	0,19	—	4,99	5,3690	+ 0,4690	Wie vorher	5 E. Insulin
					VI. Insulinversuch.								
136.	4500	—	4,99	4,885	—	—	—	—	—	—	—		
137.*)	4500	—	5,37	5,940	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher	
138.	4500	—	4,47	5,940	—	—	—	—	—	—	—		
	Summe:		14,81	16,765	1,1	13,2	0,57		15,3800	16,1076	+ 0,2785		
139.	4470		5,28	21,270	0,42	4,4	0,19		5,4700	5,3690	0,1010	Wie vorher	6 E. Insulin

Tabelle III. Insulinversuch bei normalem Hunde.

Versuchstag	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-N g	Harn-C g	C:N	Getrockneter Kot g	Kot-C g	Kot-N g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz g	Nahrungszusammensetzung pro Tag	Bemerkungen
4.	6050	600	13,20	8,1	—	—	—	—	—	—	—	500 g Pferdefleisch	
5.	6130	520	12,68	8,0	—	—	—	—	—	—	—		
6.	6250	360	12,30	6,2	—	—	—	—	—	—	—		
7.	6250	525	12,30	4,32	—	—	—	—	—	—	—		
	Summe:		50,48	26,62	0,54	28,2	18,4	6,2	56,68	65,6	+ 2,2		
8.	6350	450	13,9	8,372	0,6	7,5	4,6	1,55	15,44	16,40	+ 0,96	Wie vorher	6 E. Insulin
9.	6460	400	16,00	8,1	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher	
10.	6400	380	12,3	7,5	—	—	—	—	—	—	—		
11.	6500	350	11,8	6,3	—	—	—	—	—	—	—		
	Summe:		40,1	21,90	0,55	22,5	5,8	4,65	44,75	49,20	+ 1,48		
12.	6400	500	20,07	11,00	0,5	7,5	4,6	1,55	21,62	16,40	— 5,22	Wie vorher	6 E. Insulin

Tabelle IV. Salzversuche mit Insulin am avitaminösen Hunde.

Versuchstag	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-N g	Harn-C g	C:N	Getrockneter Kot g	Kot-N g	Kot-C g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz g	Nahrungszusammensetzung pro Tag	Bemerkungen
70.	5780	850	4,6868	1,4342	0,31	3,55	0,343	1,4	5,0298	5,3690	+ 0,3408		5 E. Insulin
71.	5720	850	3,7880	2,1167	—	—	—	—	—	—	—	40 g Reis 35 g Weizeneiweiß 15 g Schweineschmalz Aqua dest.	5 E. Insulin
72.	5600	610	6,4360	4,1735	—	—	—	—	—	—	—		„
73.	6000	480	5,2389	4,0728	—	—	—	—	—	—	—		„
	Summe:		15,4629	10,3630	0,68	12,3	1,1610	5,1	16,6239	16,1070	— 0,505		
74.	5550	380	3,9423	2,3512	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher + 1,5 g NaCl	5 E. Insulin
75.	5500	340	4,8742	2,2794	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
	Summe:		8,8165	4,6306	0,52	8,2	0,7740	3,4	9,5905	10,7380	+ 0,5737		

Tabelle IV (Fortsetzung). Salzversuche mit Insulin.

Versuchstag	Körpergewicht g	Harn-Menge ccm	Harn-N g	Harn-C g	C:N	Getrockneter Kot g	Kot-N g	Kot-C g	Harn-N + Kot-N g	Nahrungs-N g	Tägliche N-Bilanz g	Nahrungszusammensetzung pro Tag	Bemerkungen
76.	5400	555	3,344	3,1236	0,94	4,1	0,387	1,7	3,731	5,3690	+ 1,638	Wie vorher + 0,5 g SO_4 Zn	5 E. Insulin
77.	5500	550	5,1408	4,930	0,98	4,1	0,3870	1,7	5,5278	5,3690	— 0,1588	Wie vorher + 1 g MgO	5 E. Insulin
78.	5380	550	4,7600	3,0888	} 0,77	—	—	—	—	—	—	Wie vorher + 1,5 g Salzgemisch	5 E. Insulin
79.	4680	580	3,7800	3,6410		—	—	—	—	—	—		5 E. „
80.	4750	660	4,6592	3,5854		—	—	—	—	—	—		5 E. „
81.	4740	370	4,3848	3,3848		—	—	—	—	—	—		5 E. „
82.	4700	400	4,6200	2,2242		—	—	—	—	—	—		5 E. „
83.	4660	560	4,6660	2,4440		—	—	—	—	—	—		5 E. „
84.	4620	480	4,2560	2,2000	} 0,45	—	—	—	—	—	—		5 E. „
85.	4700	470	5,9200	2,1200		—	—	—	—	—	—		5 E. „
	Summe:		37,050	—	0,61	27,2	1,624	13,6	38,674	42,925	+ 0,534		
86.	4660	570	3,0800	1,4004	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher + 1,5 g Salzgemisch ohne P	5 E. Insulin
87.	4650	590	5,2528	4,9580	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
88.	4620	430	5,1420	4,8520	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
	Summe:		13,4748	11,2104	0,8	10,2	0,609	5,1	14,0838	16,1070	+ 0,676		
89.	4630	510	5,0400	2,4909	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher + 1,5 g Salzgemisch	5 E. Insulin
90.	4630	540	4,8064	2,4000	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
	Summe:		9,9464	4,8909	0,49	6,8	0,406	3,4	10,3524	10,7380	+ 0,193		
91.	4620	480	3,9200	3,2000	—	—	—	—	—	—	—	Wie vorher + 1,5 g Salzgemisch ohne Ca	5 E. Insulin
92.	4630	450	4,0600	4,7410	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
93.	4630	520	4,0360	5,7600	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
94.	4620	470	5,5700	6,9720	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
95.	4530	410	3,5616	3,8000	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
96.	4600	530	6,0464	2,1700	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
97.	4600	430	5,7760	2,1330	—	—	—	—	—	—	—		5 E. „
	Summe:		32,9700	28,5760	0,86	28,7	1,421	1,10	34,391	37,5830	+ 0,454		

Tabelle V.

Ascheversuche bei avitaminösem Hunde.

Versuchstag	Harn-C-Ausscheidung	Harn-Ascheausscheidung	Bemerkungen
8.	1,9238	0,3218	
9.	1,8001	0,3081	
10.	2,0960	0,3417	
18.	2,1021	0,3246	
19.	2,0701	0,3148	
20.	1,8070	0,2987	
28.	1,9860	0,3026	
29.	2,1120	0,3384	
30.	2,1120	0,3384	
38.	3,2990	0,3989	
39.	3,0820	0,4046	
40.	3,0820	0,4046	
51.	1,6072	0,2976	Insulin
52.	1,8326	0,2989	„
53.	1,5150	0,2646	„
61.	3,9892	0,5210	
62.	4,0550	0,4324	
63.	4,3400	0,5300	
64.	1,9132	0,3040	Insulin
65.	1,9720	0,3552	
66.	2,1938	0,2664	
67.	4,4530	0,6332	Avitaminose ohne Insulin
68.	5,7119	0,7144	
69.	1,9842	0,4254	Insulin
70.	1,4342	0,4083	
71.	2,1167	0,3268	Insuiln ohne Salzgemisch
72.	4,1735	0,2440	
73.	4,0728	0,1998	
74.	2,3512	0,4992	Insulin + 1,5 g NaCl
75.	2,2794	0,6328	
76.	3,1236	0,2356	Insuiln + 0,5 g $ZnSO_4$
77.	4,9300	0,5168	Insulin + 1,0 g MgO
78.	3,0880	0,2612	Insulin + alle Salze
79.	3,6410	5,3960	
80.	3,5854	0,3492	
81.	3,3848	0,4568	
82.	2,2242	0,3498	
83.	2,4440	0,3774	
84.	2,2000	0,3000	
85.	2,1200	0,4496	
86.	1,4004	0,3564	Insulin ohne P
87.	4,9580	0,3618	
88.	4,8520	0,4572	
89.	2,4409	0,3200	Insulin + alle Salze
90.	2,4000	0,3500	
91.	3,2000	0,4308	Insulin ohne Ca
92.	4,7416	0,6124	
93.	5,7600	0,6059	
94.	6,9720	0,6241	
95.	3,8000	0,3996	
96.	2,1700	0,3382	
97.	2,1300	0,3296	
127.	4,7130	0,5213	
136.	4,8850	0,5152	
166.	2,8300	0,3270	
167.	3,3210	0,4600	
168.	2,2317	0,1980	
171.	2,7140	0,2504	
172.	2,8320	0,4162	
173.	2,7690	0,3864	

Tabelle VI.

Ascheversuche bei dysoxydativer Carbonurie.

Datum	Patient	Harn-C-Ausscheidung	Harn-Ascheausscheidung	Bemerkungen
1. V.	Nr. 1	7,94	4,3528	
2. V.		11,00	5,1832	
3. V.		8,26	5,3200	
4. V.		12,53	3,5900	Insulin
5. V.		6,86	3,7300	„
6. V.		6,80	1,4090	„
7. V.		7,50	2,8970	„
16. V.	Nr. 2	18,70	6,3219	
17. V.		18,40	6,6329	
18. V.	Nr. 2	14,300	6,2018	
19. V.		8,140	3,8626	Insulin
19. V.	Nr. 3 (Diabetiker)	67,500	8,2382	
20. V.		30,000	4,2713	Insulin
20. V.		12,733	5,2310	
21. V.	Nr. 4	9,800	4,1321	Insulin
22. V.		9,600	3,8721	„

Tabelle VII. Phosphorversuche beim avitaminösen Hunde.

Versuchstag	Harnmenge pro Tag ccm	P_2O_5	Harn-C g	Harn-N g	C:N	Bemerkungen
61.	500	0,8875	3,9892	5,1700	0,76	Avitamin + 1,5 g Salzgemisch
64.	800	0,665	1,9132	5,0721		Insulin + 1,5 g Salzgemisch
65.	370	0,623	1,9720	4,8523	0,45	Ebenso
66.	810	0,551	2,1938	4,9024		Ebenso
67.	710	0,745	4,453	5,008	1,0	
68.	940	0,940	5,719	5,100		
71.	850	0,530	2,1167	3,7880		Insulin ohne Salzgemisch
72.	610	0,545	4,1735	6,4360	0,68	Ebenso
73.	480	0,750	4,0728	5,2389		Ebenso
74.	380	0,720	2,3512	3,9423	0,52	Insulin + 1,5 g NaCl
75.	340	0,750	2,2794	4,8742		Ebenso
76.	555	0,530	3,1236	3,344	0,94	Insulin + 0,5 g SO_4Zn
77.	550	0,420	4,930	5,1408	0,98	Insulin + 1,0 g MgO
78.	550	0,370	3,0888	4,7600		Insulin + 1,5 g Salzgemisch
79.	580	0,305	3,6410	3,7800		Ebenso
80.	660	0,400	3,5854	4,6592	0,77	Ebenso
81.	370	0,356	3,3848	4,3848		Ebenso
82.	400	0,502	2,2242	4,6200		Ebenso
83.	560	0,360	2,4440	4,6660		Ebenso
84.	480	0,455	2,2000	4,2560	0,45	Ebenso
85.	470	0,45	2,1200	5,9200		Ebenso
86.	570	0,784	1,4004	3,0800		Insulin + 1,5 g Salzgemisch ohne P
87.	590	0,672	4,9580	5,2528	0,8	Ebenso
88.	430	0,703	4,8520	5,1420		Ebenso
89.	510	0,640	2,4909	5,0400	0,49	Insulin + 1,5 g komplettes Salzgemisch
90.	540	0,615	2,4000	4,8064		Ebenso
91.	480	0,675	3,2000	3,9200		Insulin + 1,5 g Salzgemisch ohne Ca
92.	450	0,460	4,7410	4,0600		Ebenso
93.	520	0,540	5,7600	4,0360		Ebenso
94.	470	0,560	6,9720	5,5700	0,86	Ebenso
95.	410	0,350	3,8000	3,5616		Ebenso
96.	530	0,375	2,1700	6,0464		Ebenso
97.	430	0,360	2,1300	5,5760		Ebenso

Tabelle VIII. Phosphorausscheidung bei dysoxydativer Carbonurie.

Datum 1925	Patient	Harnmenge ccm	Harn-P_2O_5 g	Harn-C g	Harn-N g	C:N	Bemerkungen
1. V.	Fall Nr. 1	660	1,135	7,94	8,44	0,94	
2. V.		820	1,271	11,00	10,1	1,1	
3. V.		700	1,100	8,26	8,23	1,0	
4. V.		700	1,520	12,53	9,40	1,3	
5. V.		700	1,135	6,86	8,53	0,8	Insulin
6. V.		500	0,735	6,80	8,50	0,8	„
7. V.		500	0,550	7,5	7,80	0,9	„
16. V.	Fall Nr. 2	1560	0,624	18,7	13,97	1,2	
17. V.		1100	0,575	18,43	14,9	1,23	
18. V.		1060	0,510	14,3	12,5	1,1	
19. V.		1370	0,475	8,14	10,73	0,76	„
19. V.	Fall Nr. 3	1560	3,000	67,5	6,04	6,5	
	(Diabetes)	900	2,25	30,0	7,56	1,4 (o. Z.)	„

3. Bei der Avitaminose nimmt die Ausfuhr der Gesamtasche durch den Harn allmählich zu, insbesondere werden auch P und Ca vermehrt ausgeschieden.

4. Durch Insulininjektion wird die pathologisch erhöhte Ausscheidung von dysoxydablem Kohlenstoff durch den Harn bei der Avitaminose herabgedrückt.

5. Die regulierende Insulinwirkung auf den dysoxydablen Harnkohlenstoff scheint nur für den pathologisch erhöhten Harnkohlenstoff zuzutreffen, wenigstens bei einem Tiere, das, wie der Hund, in der Norm schon gut oxydiert.

6. Die Insulinwirkung ist bei der Avitaminose gekoppelt an Ionenwirkungen, d. h. ohne die Anwesenheit bestimmter Ionen verliert das Insulin seine regulierende Wirkung auf den pathologisch erhöhten dysoxydablen Harnkohlenstoff.

7. Unter den Ionen kommen in erster Linie in Frage P- und Ca-Ionen, deren beider Anwesenheit erforderlich ist, und die gegenseitig zu diesem Zwecke nicht ersetzbar sind.

8. Unter der Insulinwirkung retiniert der Körper bei genügendem Phosphorangebot Phosphor, bei mangelndem Phosphorangebot aber mobilisiert er Phosphor.

9. Unter der Insulinwirkung kommt es allgemein zu einer Ionenretention.

10. Endlich wollen wir an dieser Stelle noch auf die Arbeit von Frl. *Rosenwald* hinweisen, die an unserem avitaminösen Hunde in gewissen Perioden, in denen der Harnquotient C : N hoch war, die Milchsäure im Harne quantitativ bestimmte und eine geringe Vermehrung derselben im Vergleich zu den Werten vor Beginn der Avitaminose fand. Durch die Insulinbehandlung gingen auch die erhöhten Milchsäuremengen wieder auf die Norm zurück. Der in diesen erhöhten Milchsäuremengen enthaltene Kohlenstoff erklärt aber bei weitem nicht die pathologische Steigerung, die der gesamte Harnkohlenstoff an den betreffenden Tagen erfahren hatte.

Literatur.

A. Bickel, Das Wesen der Avitaminose, diese Zeitschr. **146**, 1924. — *Derselbe*, Zur Kohlenstoffbilanz bei der Avitaminose mit Bemerkungen zur Kohlenstoffbilanz beim Diabetes und zur Insulinwirkung, Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 46. — *Derselbe*, Der experimentelle Beweis für das Vorkommen „inneren Hungers", Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 12. — *Derselbe*, Vitamine, Avitaminose und dysoxydative Carbonurie, Med. Klinik 1925, Nr. 29. — *A. Bickel* und *O. Kauffmann-Cosla*, Über das Wesen und die Beeinflussung aglykosurischer Stoffwechselstörungen der N-freien, kohlenstoffhaltigen Substanz durch Insulin (dysoxydative Carbonurie), Münch. med. Wochenschr. 1925, Nr. 25. — *Dieselben*, Über den Einfluß der Ionen auf die Insulinwirkung am dysoxydablen Harnkohlenstoff,

ebendaselbst 1925, Nr. 24. — *Dieselben*, Über dysoxydative Carbonurie, Deutsch. med. Wochenschr. 1925, Nr. 24. — *Dieselben*, Experimentelle Untersuchungen über die Stellung des Diabetes im System der dysoxydativen Carbonurie, Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 28. — *Dieselben*, Zur pathologischen Physiologie und Klinik der dysoxydativen Carbonurie, erscheint in Virchows Arch. 1925. — *Schimizu*, Experimentelle Untersuchung über die Kohlenstoffausscheidung durch den Harn in der Norm, bei der Avitaminose, der Unterernährung und dem Hunger, diese Zeitschr. **153**, 1924. — *Kauffmann-Cosla* u. *Leibowitz*, Über Kohlenstoffbestimmungen im Harn und in verdünnten wässerigen Lösungen; ebendaselbst **163**, 1925. — *A. Bickel* und *Collazo*, Über den Mechanismus der Insulinwirkung (Beobachtungen an der Kohlehydratstoffwechselstörung bei der Avitaminose), Deutsch. med. Wochenschr. 1923, Nr. 45. — *Asada*, Experimentelle Untersuchung über den Einfluß der Zellsalze auf Eiweißstoffwechsel, Gaswechsel und Körpergewicht, diese Zeitschr. **140**, 1923. — *Miyadera*, Über die Beziehungen der Vitaminfunktion zum Kalkstoffwechsel, ebendaselbst **130**, 1922. — *Morinaka*, Zum Phosphorstoffwechsel bei Avitaminose, ebendaselbst **142**, 1923. — *Yoshiue*, Über den Stickstoffwechsel bei der Avitaminose, ebendaselbst **148**, 1924. — *Tsuji*, Über den Stoffwechsel bei vitaminfreier Ernährung, ebendaselbst **129**, 1922. — *Onohara*, Untersuchungen über den Einfluß des Insulins auf den Blutfettgehalt bei der Avitaminose des Hundes, ebendaselbst **163**, 1925. — *Zuntz* und *Loewy*, Lehrb. d. Physiol. 1920. — *A. Grevenstuk* und *E. Laqueur*, Insulin. Verlag Bergmann, 1925. — *H. Zondek*, Die Zweiphasenwirkung der Hormone, Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 1. — *E. Kylin*, Von der Bedeutung der K-Ionen für die Insulinwirkung, ebendaselbst 1925, Nr. 30. — *S. Buttenwieser*, Einfluß des Insulins auf den Salzstoffwechsel und Körpergewicht bei Säuglingen, Med. Klinik 1925, Nr. 18. — *F. Blumenthal*, Handb. d. spez. Pathol. d. Harns. Urban und Schwarzenberg, 1913. — *Mendel*, *Engel* und *Goldscheider*, Über den Milchsäuregehalt des Blutes unter physiologischen und pathologischen Bedingungen, Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 6 und 12. — *Serebrijski*, *Vollmer* und *Zadek*, Einfluß der Hormone auf vitaminfrei ernährte Ratten, ebendaselbst 1925, Nr. 30. — *Lily Rosenwald*, Vermehrte Milchsäureausscheidung durch den Harn bei der Avitaminose als Beweis für die Störung des Kohlehydratstoffwechsels und die Beeinflussung dieser Milchsäureausscheidung durch Insulin, diese Zeitschr. 1925. — *Collazo*, Zur Pathogenese der dysoxydativen Carbonurie, Deutsch. med. Wochenschr. 1925, Nr. 39.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 85.

Der Einfluß der inneren Sekretion auf das phagocytäre Vermögen der Leucocyten, geprüft mit der Methode von Fenn.

Von

Yukujiro Abe.

[Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern (Hallerianum)].

(Eingegangen am 4. September 1925.)

Mit 26 Abbildungen im Text.

Die Frage des phagocytären Vermögens der Leucocyten unter dem Einfluß von Drüsen mit innerer Sekretion wurde ausgehend von Problemen der Konstitutionsphysiologie in drei vorausgegangenen Arbeiten des Berner physiologischen Instituts von *Furuja, Masuno* und *Abe*[1]) bearbeitet. Der Ausgangspunkt dieser Untersuchungen war der Gedanke, zu verfolgen, ob nicht auch an einzelnen selbständig im Organismus existierenden Zellen die konstitutionellen Eigenschaften, welche das Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein von Drüsen mit innerer Sekretion dem Organismus aufprägen, auch an solchen einzelnen Zellen erkennbar wären. Tatsächlich förderten diese Untersuchungen die Erkenntnis, daß das phagocytäre Vermögen der Leucocyten auch mit bedingt werde durch die im Organismus kreisenden inneren Sekrete. Ganz besonders groß erwies sich der Einfluß der Schilddrüsen. In meiner eigenen oben erwähnten früheren Arbeit konnte ich zeigen, daß sowohl die Leucocyten als auch das Plasma der betreffenden Tiere durch das Fehlen von Drüsen mit innerer Sekretion eine Veränderung der Eigenschaften erleidet, welche für die Größe der Phagocytose bestimmend sind.

Bei der Bedeutung dieser neuen Erkenntnis, sowohl für die Lehre der inneren Sekretion wie für die Konstitutionsphysiologie scheint es notwendig, daß die Grundlage derselben gesichert sei. Die früher genannten Arbeiten wurden alle mit einer für unsere Zwecke modifi-

---

[1]) *Furuja, Masuno* und *Abe*, diese Zeitschr. **147**, 410, 1924; **152**, 302, 1924; **157**, 103, 1925.

zierten Methode, der Bestimmung des phagocytären Vermögens von *Hamburger* und seinen Groninger Mitarbeitern ausgeführt. Diese Methode hat von einigen Seiten eine Kritik erfahren. Die gefundenen Unterschiede waren aber so groß, daß selbst derjenige Teil der Kritik, dem man Berechtigung nicht absprechen kann, kaum an den Ergebnissen etwas ändern dürfte. Es hat jedoch die ganze Methodik der Phagocytose neuerdings durch *Fenn* eine tiefgehende experimentelle und insbesondere theoretische Analyse erfahren[1]). *Fenn* hat alle früheren Einwände gegen die Methode der Phagocytose dadurch beseitigt, daß er die Reaktion quantitativ auf der Grundlage der Anzahl von Zusammenstößen, welche zwischen Zellen und festen Partikeln, beispielsweise Quarz oder Kohle, von einheitlicher Größe auftreten können, aufgebaut hat. Die Leucocyten blieben eine Zeitlang mit den Partikeln in Berührung, es wurde in häufigen Intervallen eine Probeentnahme in eine Blutkörperchenzählkammer gebracht, und es wurde die Zahl der Partikel, welche *nicht* von Leucocyten aufgenommen worden waren, gezählt. Es ergab sich, daß die Aufnahme von Partikelchen unter der als richtig erweisbaren Annahme, daß die Zahl der Leucocyten konstant bleibt, nach dem Typus einer monomolekularen Reaktion

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A - x}$$

verläuft. Die Tatsache, daß ein konstantes K gefunden wurde, besagt, daß nicht die Anzahl der Zusammenstöße, sondern die Wahrscheinlichkeit der Zusammenstöße es ist, welche unter sonst gleichen Bedingungen das K bestimmt. Durch eine scharfsinnige Analyse gelangte *Fenn* zur Ermittlung, daß die Wahrscheinlichkeit der Zusammenstöße proportional ist dem Produkt aus der Differenz der Geschwindigkeit der Partikelchen und der Leucocyten und der Summe der Durchmesser beider im Quadrat, in Formel

$$R = (Vp - Vc)\,(C + P)^2 \tag{1}$$

Diese Formel wurde von *Fenn* experimentell verifiziert. Demnach ist der relative Wert nur abhängig von der Prozentzahl der Zusammenstöße, welche während der Berührung von Leucocyten und Partikelchen stattfinden, und dieses K ist daher das gewünschte Maß der Phagocytose. In der Ausführung verfuhr *Fenn* so, daß er das K dadurch bestimmte, daß er die Logarithmen der Anzahl von Teilchen, welche noch außerhalb

---

[1]) *Wallace O. Fenn*, I. Quart. Journ. of general Physiology **111**, Nr. 4, S. 439 bis 464, 1921, March 20; II. Carbons **111**, Nr. 4, S. 465 bis 482, 1921, March 20; III. Carbon and quartz **111**, Nr. 5, S. 575 bis 593, 1921, May 20.

der Leucocyten sich befanden, d. h. log $A - x$, als Ordinaten auftrug, die Zeit der Entnahme als Abszissen, und die Neigung der Linie graphisch ermittelte. Falls das K konstant ist, müssen die experimentell ermittelten Punkte auf einer geraden Linie liegen.

Nach *Fenn* würde eine Abnahme von K im Laufe der Zeit herrühren, entweder von einer Abnahme der Zahl der Zellen durch Agglutination oder von einer Ungleichförmigkeit der Suspensionen, die zu einer Verminderung der Wahrscheinlichkeit der Zusammenstöße führt, da die größeren Partikelchen in jeder Suspension rascher als die kleineren aufgenommen werden, schließlich von der Abnahme der Aktivität der Zellen aus inneren Ursachen oder wegen Änderung der Umgebung. Ein Ansteigen von K in der Zeit könnte herrühren von einer gesteigerten Geschwindigkeit der Zellen, verursacht durch größere Dichte derselben oder durch eine Erhöhung der Aktivität der Zellen infolge innerer oder äußerer Veränderung.

Wohl das Wesentlichste an den Untersuchungen von *Fenn* ist die scharfe Herausarbeitung der physikalischen Bedingungen, welche bei dem Phänomen der Phagocytose in Betracht kommen, und die vornehmlich berücksichtigt werden müssen, wenn es sich darum handelt, Veränderungen in dem phagocytären Vermögen auf physiologische Faktoren zurückzuführen, denn dann muß Gewähr dafür geboten sein, daß diese physikalischen Faktoren keine Veränderungen erleiden. Um es zu rekapitulieren, sind die physikalischen Faktoren demnach der Durchmesser der in Betracht kommenden Teile, sowohl der aufgenommenen wie der aufnehmenden, die Geschwindigkeit der beiden Teile und die Dichte. Nur wenn man sicher ist, daß man diese und die Faktoren, von denen sie abhängen, beherrscht, ist die Voraussetzung erfüllt, daß Veränderungen, welche man beobachtet, als physiologisch bedingt zu betrachten seien.

Ich habe auf Anregung von Prof. *Asher Fenns* Methodik der Phagocytose unter Berücksichtigung seiner theoretischen Analysen für die Zwecke der Untersuchung der Abhängigkeit des phagocytären Vermögens von den Drüsen mit innerer Sekretion ausgearbeitet. Es geschah dies mit der Absicht, die früher gefundene Tatsache mit einer theoretisch einwandfreien Methode zu sichern und zu erweitern. Aus meiner nachfolgenden Darlegung der von mir benutzten Methode wird hervorgehen, worauf es im einzelnen ankommt.

Was die Gewinnung der Leucocyten anlangt, so habe ich diese nach der *Hamburger*schen Methode ausgeführt. Die genaueren Angaben sind in meiner früher erwähnten Arbeit mitgeteilt worden. Ich habe 50 ccm einer 1proz. Aleuronatlösung in die Bauchhöhle eingespritzt und nach 15 Stunden das gebildete Exsudat entnommen. Die Leucocyten wurden dreimal mit 0,9proz. Kochsalzlösung gewaschen. Um die Leucocytose zu bewerkstelligen, wurden die Phagocyten mit nachfolgender Mischung nach

Fenn angesetzt: 0,4 ccm von gewaschener Leucocytensuspension + 0,4 ccm von Quarzsuspension in 0,9proz. Acacialösung + 0,2 ccm von frischem normalen Kaninchenserum + 0,1 ccm m/10 Phosphatlösung ($[H]^+ = 3 . 10^{-8}$) + 0,1 ccm einer 4,5proz. Kochsalzlösung.

Der Zusatz von Acacialösung erfolgte, um den Quarz gegen die Verklebung zu schützen. Die Phosphatlösung dient dazu, um die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes konstant zu erhalten. Ich habe häufig kolorimetrische Bestimmungen der Wasserstoffionenkonzentration gemacht, um mich zu versichern, daß keine nennenswerte Änderung der Reaktion eingetreten sei.

Was die Quarzsuspension anbetrifft, so muß der hierzu dienende Quarz sehr sorgfältig vorbereitet werden, um die von der Theorie geforderte möglichste Gleichmäßigkeit der Partikelchen zu erzielen. Da der käufliche Quarzsand zu grob ist, muß man ihn zunächst in einem gewöhnlichen Steingutmörser zerreiben. Man nimmt hierzu 0,3 ccm Quarzsand und reibt etwa 1 Stunde lang, sodann wird der Quarz 1½ Stunden lang in einem Achatmörser verrieben. Die Quarzteilchen kommen in ein Zentrifugierröhrchen mit spitzem Ende und 25 ccm fassend. Die Röhrchen werden mit 20 ccm destillierten Wassers versetzt. Nach guter Vermischung mit einer Pipette läßt man 1 Minute lang ruhig stehen, wobei die großen Teilchen zu Boden sinken. Die Flüssigkeit gießt man dann in ein anderes Gläschen derselben Art und nimmt den Bodensatz weg. Man läßt 3 Minuten lang ruhig stehen und füllt die Flüssigkeit wiederum in ein neues Gläschen der gleichen Art und wiederholt die Wegnahme des Bodensatzes und die Durchmischung der Flüssigkeit mit der Pipette. Wiederum läßt man 5 Minuten lang ruhig stehen und füllt die Flüssigkeit in ein neues Gläschen; sodann läßt man 15 Minuten lang stehen und wiederholt die Eintragung in ein neues Gläschen, und schließlich läßt man 30 Minuten lang stehen und entfernt die Flüssigkeit. Der Bodensatz besteht aus fast gleich großen Partikelchen. Falls man aber bei der mikroskopischen Untersuchung die Teilchen nicht von gleicher Größe findet, muß man die beschriebene Technik einige Male wiederholen, bis man gleichmäßig große Partikelchen von einem Durchmesser von 6 bis 10 μ bekommt. In allen meinen Versuchen wurden nur noch Partikelchen von 6 bis 10 μ Größe gebraucht.

Die Dichtigkeit meiner neun Suspensionen habe ich stets in einer Zählkammer unter dem Mikroskop untersucht, und habe es meist dahin bringen können, daß ich pro 0,02 cmm 450 Quarzpartikelchen hatte. Die oben beschriebene, zu den Phagocytoseversuchen dienende Mischung kam in eine Anzahl kleiner Gläschen mit einem inneren Durchmesser von 3 mm und einer Länge von 15 cm. In diesen Gläschen wurde die Lösung mit einer Pipette gut gemischt, und die Gläschen wurden luftfrei mit einem Glasstäbchen verschlossen. Alle diese Gläschen kamen in die Peripherie einer Scheibe, welche in einem auf 37° gehaltenen Wasserbade um eine Horizontalachse zwölfmal in der Minute rotierte. Die Abb. 1 zeigt die Anordnung, deren ich mich bediente. Einen genau durch Widerstand und Zentrifugalscheibe regulierbaren elektrischen Motor, die rotierende Scheibe und das Wasserbad.

Diese Vorrichtung erfüllt die von *Fenn* geforderte Bedingung, daß während des ganzen Phagocytoseversuchs die Geschwindigkeit der Teilchen, die miteinander in Berührung kommen können, die gleiche bleibt. Von den hergestellten, anfänglich ganz gleichen Suspensionen wurde eine sofort, eine nach 30 Minuten, eine nach 60 Minuten, eine nach 90 Minuten und eine nach 120 Minuten untersucht.

Stets wurde mit genau der gleichen kleinen Pipette aus der gut gemischten Lösung etwas Mischung aufgesaugt und in eine *Bürker*sche doppelte Zählkammer übertragen. Ich habe stets den Raum von 0,02 cmm durchgezählt, da es sich um eine Doppelkammer handelt, demnach den Raum von 0,04 cmm. Die gefundenen Zahlenwerte habe ich dann durch 2 geteilt. Gezählt wurde demnach jederzeit in einem Raum von genau 0,02 cmm: 1. die Quarzpartikelchen, welche außerhalb der Leucocyten lagen, also nicht phagocytiert waren, und 2. die Zahl der Leucocyten, welche keine Quarzpartikelchen enthielten. Es ist klar nach der ganzen Anordnung der Versuche, daß im Laufe der Zeit die Quarzpartikelchen, welche nicht phagocytiert waren, und die Zahl der Leucocyten, welche nicht phagocytiert hatten, abnehmen müssen.

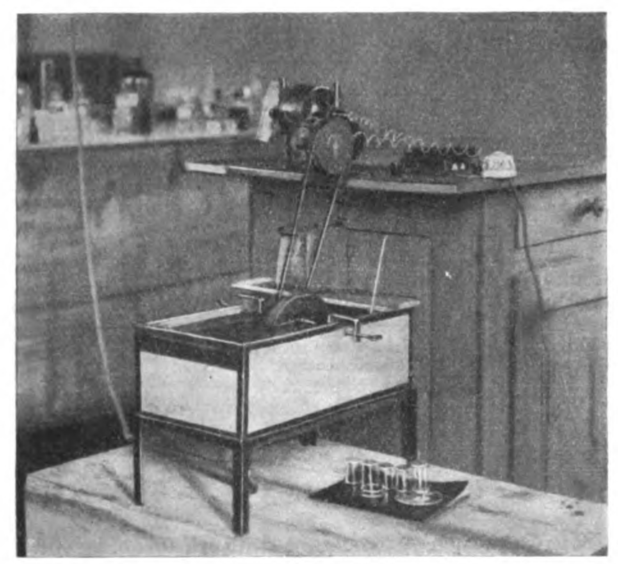


Abb. 1.

Die Einheit der von mir benutzten *Bürker*schen Zählkammer betrug $^1/_{4000}$; ich habe daher stets 18 Einheiten durchgezählt, und einen Raum von 0,02 cmm untersucht.

Die Anzahl der Leucocyten in der von mir gewählten Raumeinheit habe ich so eingerichtet, daß sie angenähert 150 betrug. Es war demnach in meinen Versuchen das Verhältnis von Leucocyten zu Quarzpartikelchen annähernd 1 : 3.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen teile ich in Form vor allem einer Kurvendarstellung mit. Die unterste Kurve gibt über der Zeit die Anzahl von Leucocyten, welche nicht Quarzpartikelchen aufgenommen haben. Die mittlere Kurve gibt die Anzahl von Quarzpartikelchen, welche nicht aufgenommen wurden. Die oberste Kurve gibt die Logarithmen der Zahl der nicht aufgenommenen Quarzpartikelchen, demnach den zu dem betreffenden Zeitmoment gehörenden Wert log $(A - x)$. Die Ordinatenwerte sind bezeichnet o — 250, für die oberste Kurve gilt

aber der 100mal kleinere Wert, demnach Werte, die zwischen 1,50 und 2,50 liegen. Dies ist bei der Kenntnisnahme der Kurven zu berücksichtigen.

Nach der hier mit Absicht genau dargelegten Methode, die im wesentlichen, wie gesagt, eine Reproduktion der *Fenn*schen Methode ist, habe ich die Phagocytose von normalen Leucocyten und von Leucocyten, die von Tieren ohne Schilddrüse, ohne Milz, ohne Ovarium und ohne Hoden stammte, untersucht. Von allen Tieren wurde vor der Operation die Größe der Phagocytose bestimmt.

Reihe 1 gibt die Ergebnisse der Phagocytoseversuche an normalen Tieren, sowie die dazu gehörigen fünf Kurvendarstellungen. Es zeigt sich namentlich in der mittleren Kurve der rasche Abfall, der nicht von Leucocyten aufgenommenen Quarzpartikelchen. Nicht immer ist der Abfall ein gleichmäßiger, stets aber ist der Anfangsteil eine sehr steile Linie. Was die Kurve der log $(A - x)$ anbelangt, so ist sie in den meisten Versuchen annähernd eine gerade Linie, was, wie *Fenn* ausgeführt, bedeutet, daß das K konstant bleibt.

Reihe 1.

Versuch 1. Normales Kaninchen. 12 Rotationen pro Minute.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	53	165 log = 2,21
30	26	128 „ = 2,10
60	22	109 „ = 2,03
90	10	71 „ = 1,85
120	8	49 „ = 1,69

Unterschied zwischen Anfangszahlen und Endzahlen von Quarz
165 — 49 = 116.

Unterschied zwischen log von den Anfangszahlen und Endzahlen
2,21 — 1,69 = 0,52.

Versuch 2.

Normales Kaninchen (15). 12 Rotationen pro Minute. 23. Oktober.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	45	136 log = 2,13
30	30	93 „ = 1,96
60	24	70 „ = 1,84
90	19	39 „ = 1,59
120	13	26 „ = 1,41

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
136 — 26 = 110.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,13 — 1,41 = 0,72.

Versuch 3.

Normales Kaninchen (2). 12 Rotationen pro Minute.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	55	161 log = 2,20
30	23	126 „ = 2,08
60	20	102 „ = 2,00
90	17	70 „ = 1,84
120	15	44 „ = 1,64

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
1,61 — 44 = 117.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,20 — 1,64 = 0,56.

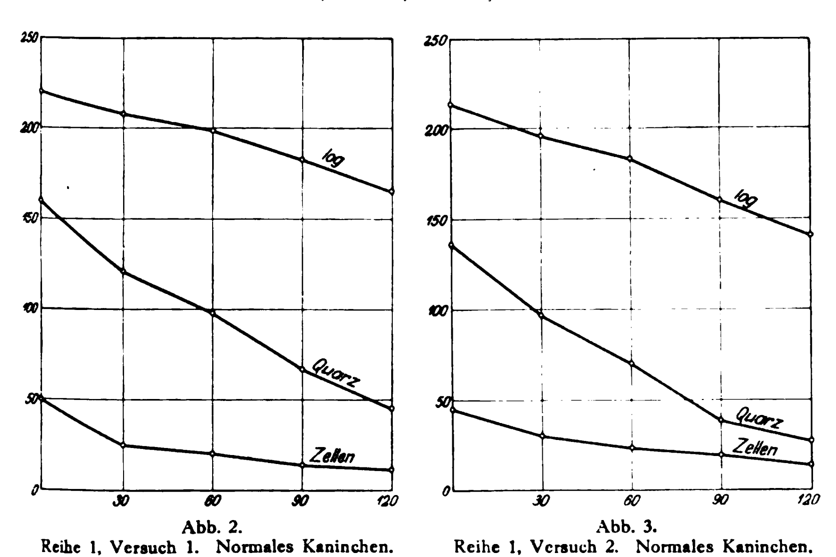


Abb. 2.
Reihe 1, Versuch 1. Normales Kaninchen.

Abb. 3.
Reihe 1, Versuch 2. Normales Kaninchen.

Versuch 4.

Normales Kaninchen (10). 12 Rotationen pro Minute. 31. Oktober.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	50	175 log = 2,24
30	22	140 „ = 2,14
60	17	114 „ = 2,05
90	12	94 „ = 1,97
120	9	61 „ = 1,78

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
175 — 61 = 114.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,24 — 1,78 = 0,46.

Durchschnitt von Normalkaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	50	159 log = 2,20
30	25	121 „ = 2,08
60	20	98 „ = 1,99
90	14	68 „ = 1,83
120	11	45 „ = 1,65

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz 159 — 45 = 114.
Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen 2,20 — 1,65 = 0,55.

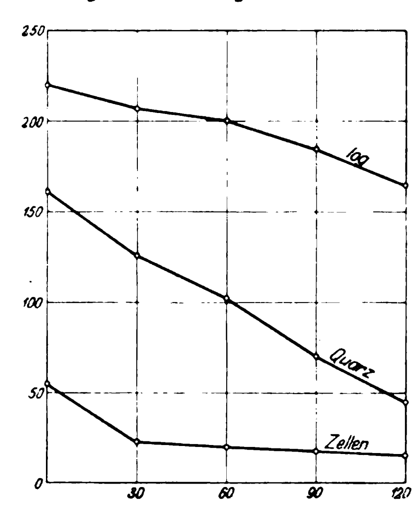


Abb. 4. Reihe 1, Versuch 3. Normales Kaninchen.

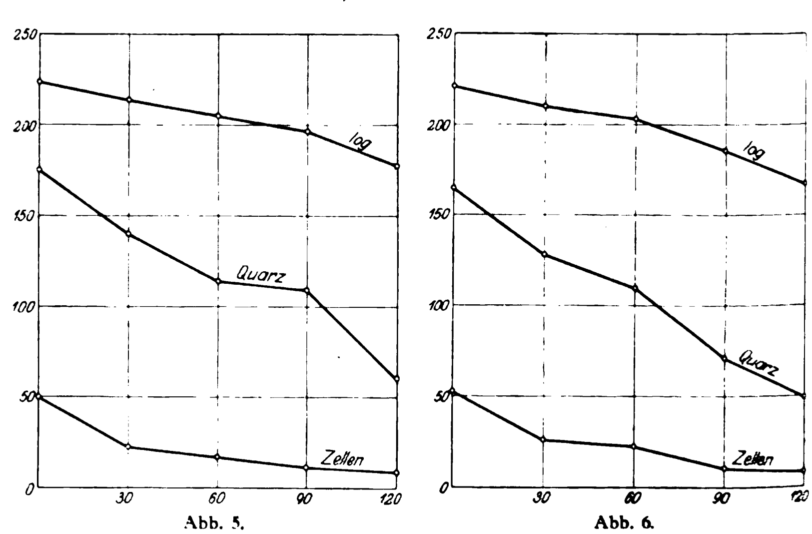


Abb. 5.
Reihe 1, Versuch 4. Normales Kaninchen.

Abb. 6.
Reihe 1, Durchschnitt. Normales Kaninchen.

Reihe 2 gibt die Ergebnisse von fünf Versuchen an schilddrüsenlosen Tieren. Zunächst ist ersichtlich, daß der Abfall der Linie, welche die nicht von Zellen aufgenommenen Quarzpartikelchen darstellt, eine viel weniger steile ist, als in der Normalreihe. Die Kurve der log $(A - x)$-Werte ist sogar noch genauer wie in der früheren Reihe eine gerade Linie, ein Beweis dafür, daß es sich auch in dieser Reihe um eine konstante Reaktionsgeschwindigkeit gehandelt hat. Aber die Neigung dieser Linie ist erheblich geringer als in der Normalreihe, wodurch sehr deutlich zum Ausdruck gelangt, daß bei Fehlen der Schilddrüse das phagocytäre Vermögen der Leucocyten wesentlich herabgesetzt ist. Es ist jetzt diese wichtige Tatsache durch die exakte Methode von *Fenn* bestätigt worden.

Reihe 2.

Schilddrüsenlose Kaninchen.

Versuch 1.

Schilddrüse-Kaninchen (2). 12 Rotationen pro Minute. 18. November.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	59	179 log = 2,25
30	31	161 „ = 2,20
60	20	146 „ = 2,16
90	11	135 „ = 2,13
120	9	118 „ = 2,07

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
179 — 118 = 61.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,25 — 2,07 = 0,18.

Versuch 2.

Schilddrüsenloses Kaninchen (4). 12 Rotationen pro Minute. 18. November.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	58	180 log = 2,25
30	34	166 „ = 2,22
60	26	148 „ = 2,17
90	8	145 „ = 2,16
120	6	128 „ = 2,10

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
180 — 128 = 52.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,25 — 2,10 = 0,15.

Versuch 3.

Schilddrüsenloses Kaninchen (13). 12 Rotationen pro Minute. 27. November.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	41	132 log = 2,12
30	21	108 „ = 2,03
60	20	91 „ = 1,95
90	18	82 „ = 1,91
120	11	69 „ = 1,82

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
132 — 69 = 63.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,12 — 1,82 = 0,30.

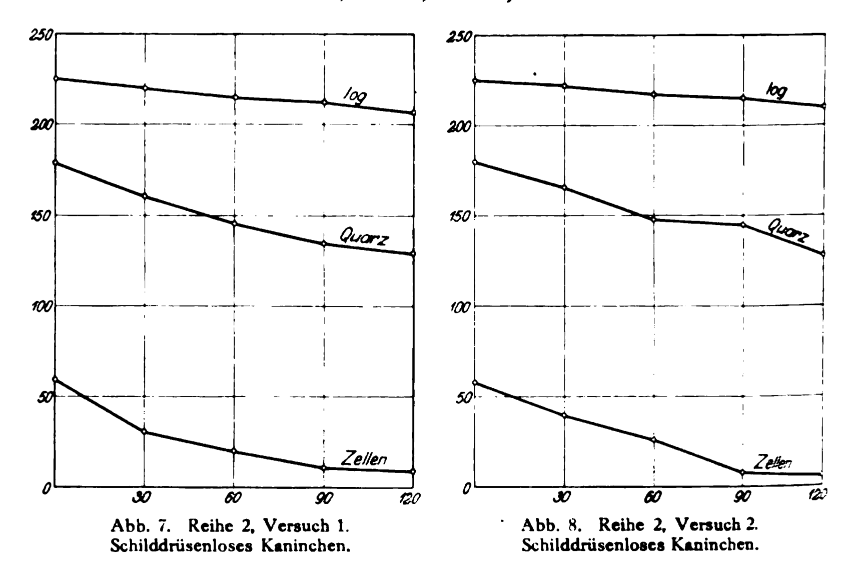


Abb. 7. Reihe 2, Versuch 1. Schilddrüsenloses Kaninchen.

Abb. 8. Reihe 2, Versuch 2. Schilddrüsenloses Kaninchen.

Versuch 4.

Schilddrüsenloses Kaninchen (13). 12 Rotationen pro Minute. 29. November.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	41	152 log = 2,18
30	32	132 „ = 2,12
60	27	123 „ = 2,08
90	21	104 „ = 2,01
120	19	91 „ = 1,95

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
152 — 91 = 0,61.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,18 — 1,95 = 0,23.

Durchschnitt von schilddrüsenlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	49	161 log = 2,20
30	29	142 „ = 2,15
60	23	127 „ = 2,10
90	14	116 „ = 2,06
120	11	101 „ = 2,00

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
161 — 101 = 60.
Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,20 — 2,00 = 0,20.

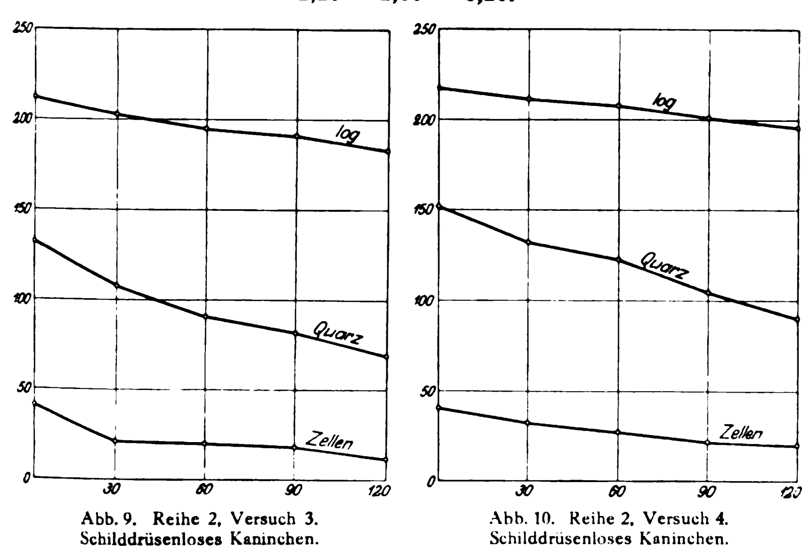


Abb. 9. Reihe 2, Versuch 3. Schilddrüsenloses Kaninchen.

Abb. 10. Reihe 2, Versuch 4. Schilddrüsenloses Kaninchen.

Reihe 3 gibt die Versuche an milzlosen Tieren.

Reihe 3.

Milzlose Kaninchen.

Versuch 1.

Milzloses Kaninchen (9). 12 Rotationen pro Minute. 3. November.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	54	164 log = 2,21
30	20	138 „ = 2,13
60	18	123 „ = 2,08
90	16	98 „ = 1,99
120	7	78 „ = 1,89

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
164 — 78 = 86.
Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,21 — 1,89 = 0,32.

Versuch 2.

Milzloses Kaninchen (8). 12 Rotationen pro Minute. 6. November.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	48	146 log = 2,16
30	18	125 „ = 2,09
60	14	91 „ = 1,95
80	10	73 „ = 1,86
120	9	50 „ = 1,69

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
146 — 50 = 96.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,16 — 1,69 = 0,47.

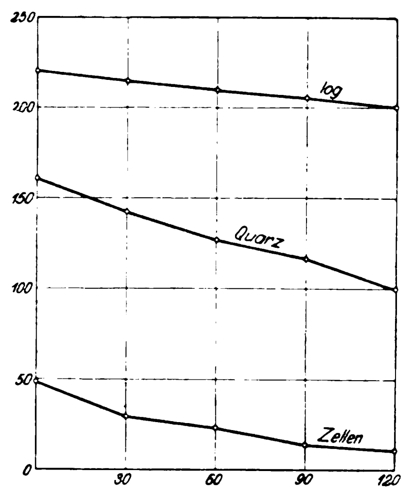


Abb. 11. Reihe 2, Durchschnitt.
Schilddrüsenloses Kaninchen.

Versuch 3.

Milzloses Kaninchen (9). 12 Rotationen pro Minute. 10. November

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	56	162 log = 2,20
30	28	136 „ = 2,13
60	25	116 „ = 2,06
90	18	103 „ = 2,01
120	8	78 „ = 1,89

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
162 — 78 = 84.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,20 — 1,89 = 0,31.

Versuch 4.

Milzloses Kaninchen. 12 Rotationen pro Minute. 14. November.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	54	166 log = 2,22
30	31	148 „ = 2,17
60	19	108 „ = 2,03
90	12	88 „ = 1,94
120	7	69 „ = 1,83

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz 166 — 69 = 97.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen 2,22 — 1,83 = 0,39.

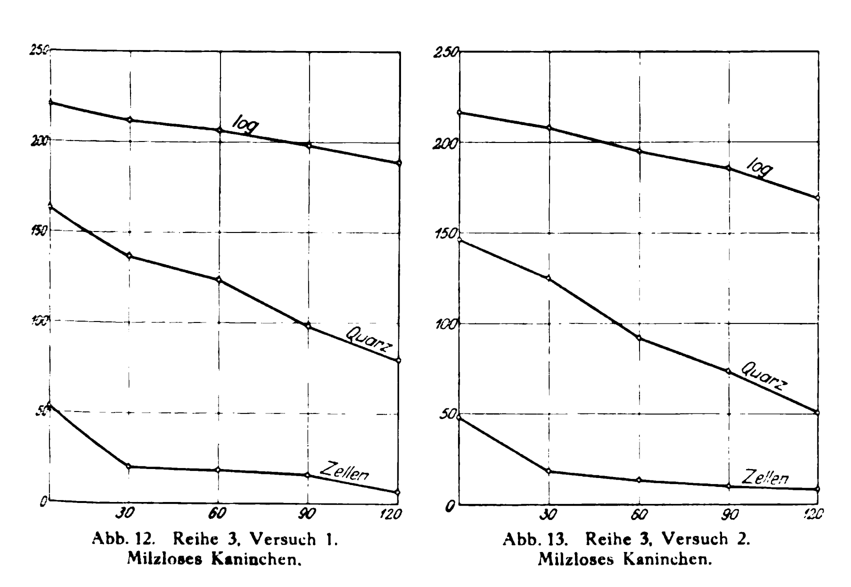


Abb. 12. Reihe 3. Versuch 1. Milzloses Kaninchen.

Abb. 13. Reihe 3. Versuch 2. Milzloses Kaninchen.

Durchschnitt von milzlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	53	159 log = 2,20
30	24	136 „ = 2,23
60	19	109 „ = 2,03
90	14	90 „ = 1,95
120	7	68 „ = 1,83

Durchschnitt zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz 159 — 68 = 91.

Durchschnitt zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen 2,20 — 1,83 = 0,37.

Die Ergebnisse der Phagocytoseversuche zeigen am milzlosen Tiere im Vergleich zum normalen eine gewisse Verminderung des phagocytären Vermögens, allerdings nicht so erheblich wie bei schilddrüsenlosen Tieren.

In der nächsten Versuchsreihe habe ich die Phagocytose bei Tieren ohne Ovarium untersucht. Bei diesen ovariumlosen Tieren ist gleichfalls eine gewisse Abnahme des phagocytären Vermögens der Leucocyten festzustellen. Aber diese Abnahme ist geringer als diejenige bei den milzlosen und noch geringer als diejenige bei den schilddrüsenlosen Tieren.

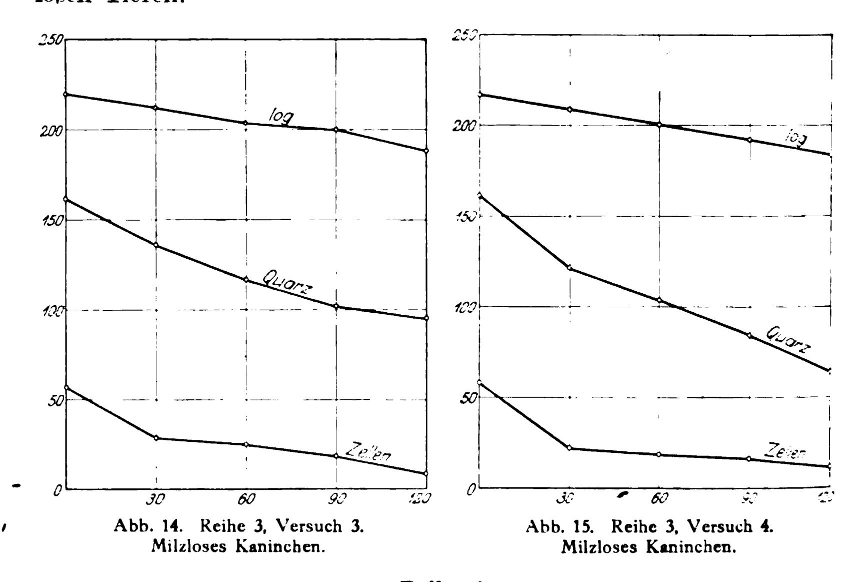


Abb. 14. Reihe 3, Versuch 3. Milzloses Kaninchen.

Abb. 15. Reihe 3, Versuch 4. Milzloses Kaninchen.

Reihe 4.

Ovariumlose Kaninchen.

Versuch 1.

Ovariumloses Kaninchen. 12 Rotationen pro Minute. 2. Dezember.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	58	161 log = 2,20
30	22	121 „ = 2,08
60	18	103 „ = 2,01
90	16	84 „ = 1,92
120	11	63 „ = 1,79

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
161 — 63 = 98.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,20 — 1,79 = 0,41.

Versuch 2.

Ovariumloses Kaninchen. 12 Rotationen pro Minute. 4. Dezember.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	50	136 log = 2,13
30	22	99 „ = 1,99
60	19	78 „ = 1,89
90	18	50 „ = 1,69
120	14	35 „ = 1,54

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
136 — 35 = 101.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,13 — 1,54 = 0,59.

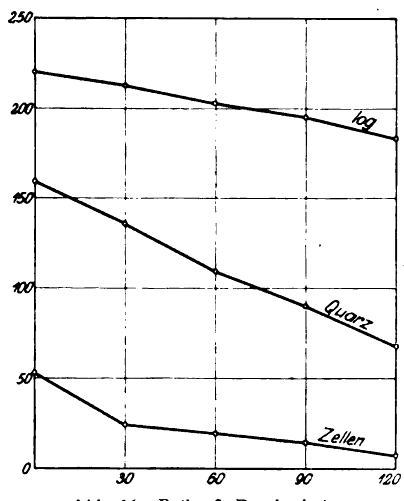


Abb. 16. Reihe 3, Durchschnitt.
Milzloses Kaninchen.

Versuch 3.

Ovariumloses Kaninchen. 12 Rotationen pro Minute. 6. Dezember.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	55	140 log = 2,14
30	30	108 „ = 2,03
60	20	88 „ = 1,94
90	15	60 „ = 1,77
120	8	44 „ = 1,64

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
140 — 44 = 96.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,14 — 1,64 = 0,50.

Versuch 4.

Ovariumloses Kaninchen. 12 Rotationen pro Minute. 9. Dezember.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	54	171 log = 2,23
30	18	131 „ = 2,11
60	13	120 „ = 2,07
90	10	100 „ = 2,00
120	8	79 „ = 1,89

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
171 — 79 = 92.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,23 — 1,89 = 0,34.

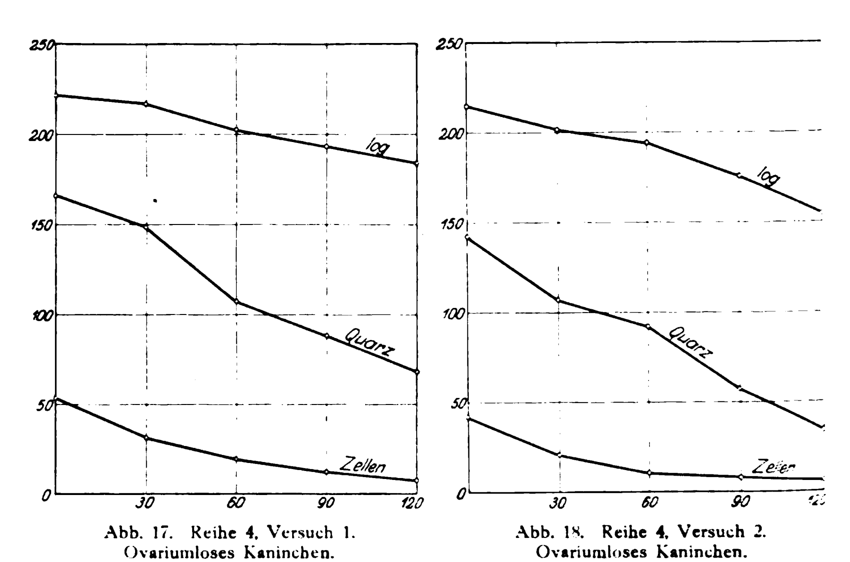


Abb. 17. Reihe 4, Versuch 1. Ovariumloses Kaninchen.

Abb. 18. Reihe 4, Versuch 2. Ovariumloses Kaninchen.

Durchschnitt von ovariumlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	54	152 log = 2,18
30	23	114 „ = 2,04
60	17	97 „ = 1,98
90	14	73 „ = 1,86
120	10	55 „ = 1,74

Durchschnitt zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
152 — 55 = 97.

Durchschnitt zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,18 — 1,74 = 0,44.

Schließlich habe ich Tiere untersucht, bei denen beide Hoden entfernt worden waren.

Reihe 5.

Hodenlose Kaninchen.

Versuch 1.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	54	159 log = 2,20
30	30	130 „ = 2,11
60	18	111 „ = 2,04
90	12	69 „ = 1,83
120	8	51 „ = 1,70

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
159 — 51 = 108.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,20 — 1,70 = 0,50.

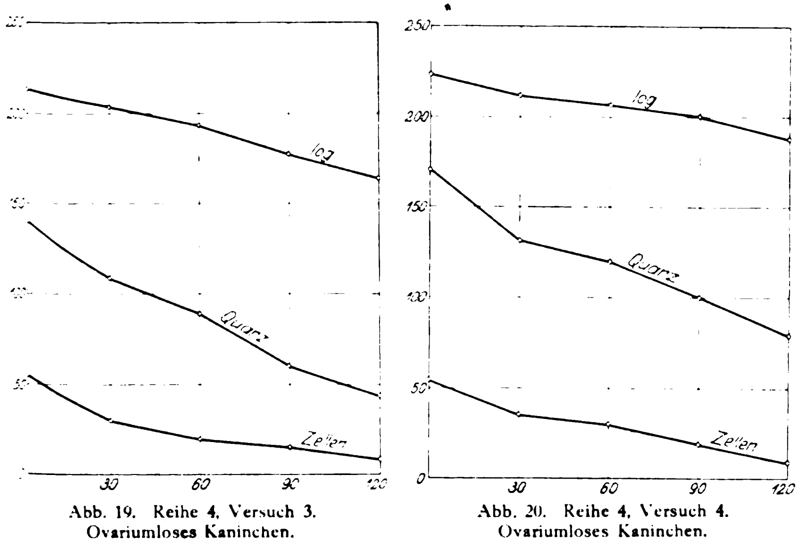


Abb. 19. Reihe 4, Versuch 3. Ovariumloses Kaninchen.

Abb. 20. Reihe 4, Versuch 4. Ovariumloses Kaninchen.

Versuch 2.

Hodenloses Kaninchen (15). 12 Rotationen pro Minute. 17. Dezember.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	53	168 log = 2,22
30	34	131 „ = 2,11
60	23	115 „ = 2,06
90	16	78 „ = 1,89
120	9	59 „ = 1,77

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
168 — 59 = 109.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,22 — 1,77 = 0,45.

Versuch 3.

Hodenloses Kaninchen (15). 12 Rotationen pro Minute. 22. Dezember.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	43	143 log = 2,15
30	21	107 „ = 2,02
60	11	93 „ = 1,96
90	8	58 „ = 1,76
120	7	36 „ = 1,55

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
143 — 36 = 107.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,15 — 1,55 = 0,60.

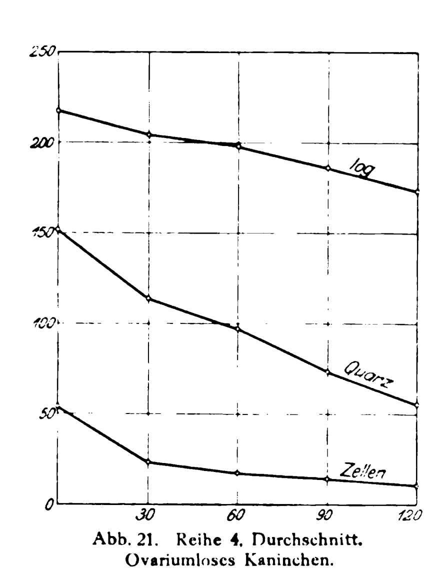


Abb. 21. Reihe 4, Durchschnitt. Ovariumloses Kaninchen.

Durchschnitt von hodenlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	50	156 log = 2,19
30	28	122 „ = 2,08
60	17	106 „ = 2,02
90	12	68 „ = 1,83
120	8	48 „ = 1,68

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
156 — 48 = 108.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,19 — 1,68 = 0,51.

In dieser Versuchsreihe ist die Abnahme des phagocytären Vermögens womöglich noch geringfügiger als in der voraufgehenden Reihe. Der Unterschied gegenüber der Norm ist nur ein ganz geringfügiger.

Zum Schluß bringe ich in Kurvenform nebeneinander zur Übersicht die Gesamtheit meiner Ergebnisse.

Durchschnitt der normalen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	50	159 log = 2,20
30	25	121 „ = 2,08
60	20	98 „ = 1,99
90	14	68 „ = 1,83
120	11	45 „ = 1,65

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz 159 — 45 = 114.
Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen 2,20 — 1,65 = 0,55.

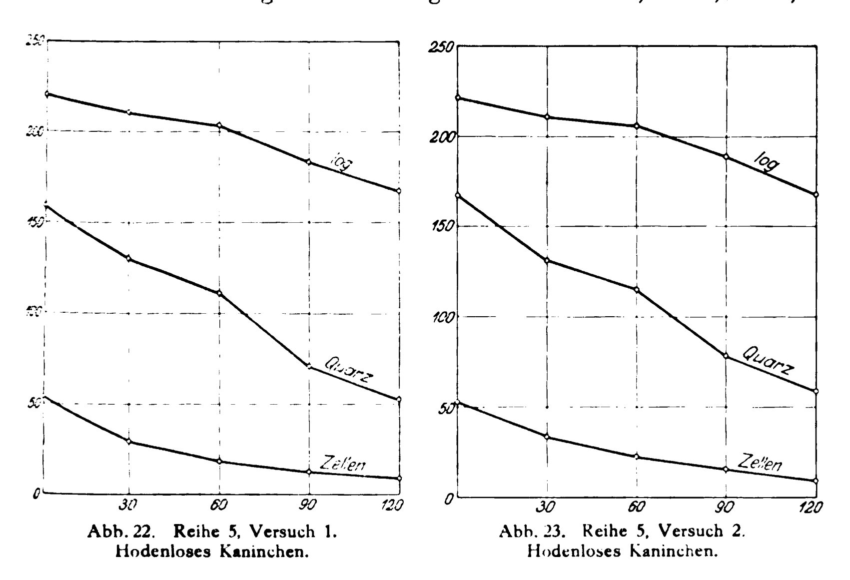


Abb. 22. Reihe 5, Versuch 1. Hodenloses Kaninchen.

Abb. 23. Reihe 5, Versuch 2. Hodenloses Kaninchen.

Durchschnitt von hodenlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	50	156 log = 2,19
30	28	122 „ = 2,08
60	17	106 „ = 2,02
90	12	68 „ = 1,83
120	8	48 „ = 1,68

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz 156 — 48 = 108.
Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen 2,19 — 1,68 = 0,51.

Durchschnitt von ovariumlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	54	152 log = 2,18
30	23	114 „ = 2,04
60	17	97 „ = 1,98
90	14	73 „ = 1,86
120	10	55 „ = 1,74

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
152 — 55 = 97.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,18 — 1,74 = 0,44.

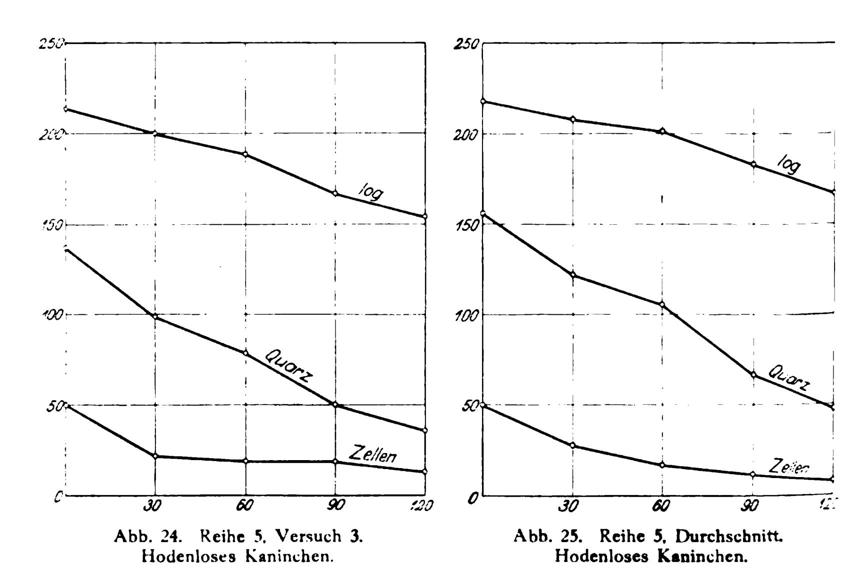


Abb. 24. Reihe 5. Versuch 3. Hodenloses Kaninchen.

Abb. 25. Reihe 5. Durchschnitt. Hodenloses Kaninchen.

Durchschnitt von milzlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	53	159 log = 2,20
30	24	136 „ = 2,13
60	19	109 „ = 2,03
90	14	90 „ = 1,95
120	7	68 „ = 1,83

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
159 — 68 = 91.

Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,20 — 1,83 = 0,37.

Durchschnitt von schilddrüsenlosen Kaninchen.

Minuten nach Beginn	Zellen, welche *nicht* Leucocyten aufgenommen haben	*Nicht* aufgenommene Quarzpartikel
	49	161 log = 2,20
30	29	142 „ = 2,15
60	23	127 „ = 2,10
90	14	116 „ = 2,06
120	11	101 „ = 2,00

Unterschied zwischen den Anfangs- und Endzahlen von Quarz
161 — 101 = 60.
Unterschied zwischen log von den Anfangs- und Endzahlen
2,20 — 2,00 = 0,20.

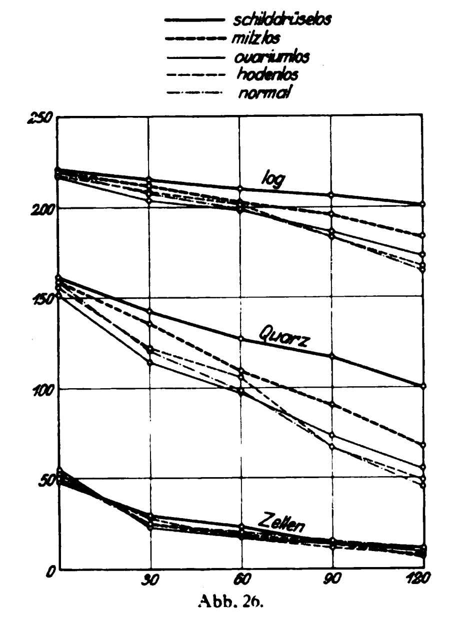


Abb. 26.

Insgesamt hat sich aus den hier mitgeteilten Versuchen ergeben, daß die Wegnahme der Schilddrüsen, sodann die Wegnahme der Milz das phagocytäre Vermögen der Leucocyten beeinflußt, und zwar in dem Sinne, daß dasselbe sich vermindert, am allerausgesprochensten bei Fehlen der Schilddrüse. Auch die Wegnahme der Geschlechtsorgane bewirkt eine Herabsetzung des phagocytären Vermögens, jedoch ist diese Herabsetzung so geringfügig, daß sie praktisch kaum ins Gewicht fallen dürfte. Es ist interessant, daß in bezug auf die Beeinflussung des phagocytären Vermögens Schilddrüse und Milz synergistisch wirken. Es zeigt sich wiederum, wie vorsichtig man mit Verallgemeinerungen sein muß, denn es ist ebenso sicher, daß mit Rücksicht auf andere Funktionen Schilddrüse und Milz antagonistisch wirken.

Als bei weitem das wichtigste Resultat meiner Arbeit betrachte ich die Tatsache daß auch mit der theoretisch einwandfreien Methode von *Fenn* die enge Beziehung zwischen innerer Sekretion und phagocytärem Vermögen sich hat feststellen lassen. Da wir das phagocytäre Vermögen als eine experimentell angreifbare Teilerscheinung der Konstitutionsphysiologie ansehen dürfen, ist mit dieser Feststellung auch der Erforschung der Konstitutionsphysiologie gedient.

Zusammengefaßt, sind die wesentlichen Ergebnisse der vorstehenden Arbeit die folgenden:

1. Die von *W. O. Fenn* theoretisch und experimentell ausgearbeitete Methode der Untersuchung des phagocytären Vermögens wurde zur Untersuchung der Beziehung zwischen phagocytärem Vermögen und innerer Sekretion benutzt.

2. Mit dieser Methode wird gefunden, daß die Entfernung der Schilddrüse eine bedeutende Verminderung des phagocytären Vermögens bedingt.

3. In absteigender Reihe hat den gleichen Einfluß die Entfernung der Milz, des Ovariums und der Hoden.

4. Die in früheren Arbeiten mit anderen Methoden erhaltenen Ergebnisse werden somit bestätigt.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 86.

Fortgesetzte Prüfung der chemischen Regulation des Herzschlages durch die Leber.

Von

Willy Richardet[1]).

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Mit 23 Abbildungen im Text.

Einleitung.

In einer vorausgegangenen Arbeit aus dem Berner physiologischen Institut hat *Takahashi*[2]) die Frage experimentell in Angriff genommen, ob nicht die Leber, wie so zahlreiche andere Organe, an den Organismus ein inneres Sekret abgibt, das in regelndem Sinne in das Getriebe der Körperfunktionen eingreift. Es wurde dabei von der Erwägung ausgegangen, daß die Leber angesichts der Tatsache, daß sie dasjenige Organ ist, das dem Herzen am unmittelbarsten vorgelagert ist, möglicherweise auch neben der schon seit längerer Zeit bekannten mechanischen Entlastung des Herzens durch Schutz vor plötzlichem Zufluß allzu großer Flüssigkeitsmengen aus dem Kreislauf[3]) auch in chemischem Sinne einen Einfluß auf das Herz auszuüben imstande wäre, dadurch, daß sie einen chemischen Stoff an das Blut abgibt, der die Herzfunktion im Sinne einer Regulation beeinflussen könnte. Dies wurde auf doppelte Weise bewiesen.

---

[1]) Kurz nach Fertigstellung dieser Arbeit wurde Dr. *Willy Richardet* am Montblanc durch einen tückischen Steinschlag uns entrissen. Wir im Laboratorium haben den Enthusiasmus und die glänzende Leistungsfähigkeit des Jünglings nicht weniger bewundert wie seine Kameraden, denen er ein Vorbild in der heldenhaften und vorsichtigen Besteigung der Hochalpen war. Alle, die ihn kannten, erwarteten große Dinge von ihm und werden seiner nicht leicht vergessen. *Leon Asher.*

[2]) *Takahashi*, diese Zeitschr. 149, 468, 1924.

[3]) *Yamada*, ebendaselbst 123, 168, 1921.

Takahashi hat gefunden, daß eine Flüssigkeit, die während längerer Zeit die Leber durchspült hatte, verglichen mit derselben Flüssigkeit, die nicht die Leber passiert hatte, sowohl auf das Frosch- wie auch auf das Schildkrötenherz einen sympathisch fördernden Einfluß ausübte, *was sich nicht nur in Erhöhung von Schlagstärke und Schlagzahl, sondern namentlich in wesentlicher Herabsetzung der Erregbarkeit des Nervus vagus dokumentierte.* In einer zurzeit noch nicht veröffentlichten Arbeit aus dem Berner physiologischen Institut hat *Kobori* dieselben Tatsachen an der Säugetierleber und am Säugetierherzen konstatiert.

Angesichts dieser neuen und für die Lehre von der inneren Sekretion nicht unwichtigen Entdeckung war es geboten, die Methoden zur weiteren Verfolgung und genaueren Untersuchung dieser Erscheinungen weiter auszubauen. *Takahashi* hat in seinen Versuchen die Arbeit des Frosch- und Schildkrötenherzens mit Hilfe des Suspensionshebels am Kymographion registriert. Da aber die auch sonst mit Ungenauigkeiten behaftete Suspensionsmethode keine Auskunft über den wesentlichsten Kreislaufsfaktor, das Schlagvolumen, gibt, erschien nach dieser Richtung eine Weiterführung der Untersuchung am dringlichsten.

Auf Anregung von Prof. *Asher* unternahm ich es daher,

a) den Einfluß einer Lösung, die die Leber passiert hatte, auf das Schlagvolumen des Herzens zu untersuchen;

b) durch ausgedehnte Veränderung in der chemischen Zusammensetzung der für die Durchströmung der Leber bestimmten Perfusionslösung etwaige Fehlerquellen auszuschalten, um so die neue Erscheinung näher zu beleuchten. Dies hatte folgendermaßen zu geschehen:

Eine der wichtigsten möglichen Veränderungen einer Flüssigkeit, die die Leber passiert hat, ist der erhöhte Zuckergehalt. Mit Hilfe der neuen Methode sollte nun das Verhalten der Leber gegenüber Lösungen mit verschiedenem Zuckergehalt geprüft werden. Auf Einzelheiten werde ich im Verlaufe der Arbeit näher eingehen. Weiter schien es angebracht, der Perfusionsflüssigkeit den erforderlichen Gehalt an Phosphaten beizufügen, um eine stark gepufferte Lösung zu erhalten; schließlich war es angezeigt, die Versuche nicht bloß auf physiologische Salzlösungen zu beschränken, sondern durch passende Mischungen von solchen mit Blut die Versuchsmöglichkeiten zu erweitern. Dadurch war ein doppelter Zweck zu erreichen: Einmal schafft eine passende Blut-Ringer- oder Blut-Broemserlösung[1]) die günstigsten Bedingungen am isolierten Froschherzen, sodann, und das ist besonders wichtig, wird durch den Blutzusatz eine möglicherweise störende Fehlerquelle beseitigt. Es ist unvermeidbar, daß bei der Perfusion von Salzlösungen durch die Leber Stoffe in das Perfusat

[1]) *Barkan, Broemser* und *Hahn*, Zeitschr. f. Biol **74**, 1. 1922.

gelangen, denen man im Serum begegnet. Es handelt sich um Stoffe aus dem Serum (*Gottlieb* und *Freund* haben sie „*differente Serumprodukte*" genannt), die eine adrenalinähnliche, also mit anderen Worten sympathisch erregende Wirkung besitzen. Es galt, diese Fehlerquelle auszuschalten.

Methodik.

Als Versuchstier diente mir bei allen Versuchen der Frosch. Für jeden Versuch wurden zwei Tiere benutzt; das eine diente zur Durchspülung der Leber, das andere lieferte das Herz zur Prüfung der so gewonnenen Flüssigkeit.

Die Perfusion der Leber geschah auf ähnliche Weise, wie es *Takahashi* in seinen Versuchen getan hat. Ein in der Höhe verstellbares kleines Sammelgefäß ist durch einen dünnen, mit verstellbarem Quetschhahn versehenen Schlauch mit einer Kanüle verbunden, die in die Vena portae eingebunden wird. Schlauchdurchmesser und Höhe des Sammelgefäßes werden genau reguliert, damit der Druck dem in der Vena portae herrschenden normalen gleichkommt. Nach der Passage durch Leber und Herz wird die Flüssigkeit mittels einer in die linke Aorta eingebundenen Kanüle in einem Gefäß aufgefangen, um von hier zur erneuten Leberpassage ein zweites, drittes Mal usf. in das Sammelgefäß gebracht zu werden. Diese Methode erachtete ich als sicherer und besser als eine direkte Rückleitung mittels eines Schlauches aus der Aortenkanüle in das Sammelgefäß, wie dies *Takahashi* getan hat; denn es wollte mir scheinen, daß es eines viel zu großen und daher unphysiologischen Druckes bedürfe, um die aus dem Herzen ausgepumpte Flüssigkeit in das *viel höher gelegene* Sammelgefäß zurückzutreiben. Es ist daher nicht völlig Garantie gegeben, daß jeweils wirklich die gesamte Flüssigkeitsmenge in das Sammelgefäß zurückkehrt, was jedoch beim Auffangen derselben in einem Bechergläschen gewährleistet ist. Als Durchspülungszeit wählte ich 1½ Stunde, was eben einer 10- bis 15maligen Passage der gleichen Flüssigkeitsmenge durch die Leber entspricht. Vorsichtigerweise wurden *vor* Beginn der eigentlichen Durchspülung die im Lebergewebe restierenden Blutbestandteile ausgeschwemmt und erst das zweite oder dritte Quantum Flüssigkeit für die Durchspülung benutzt.

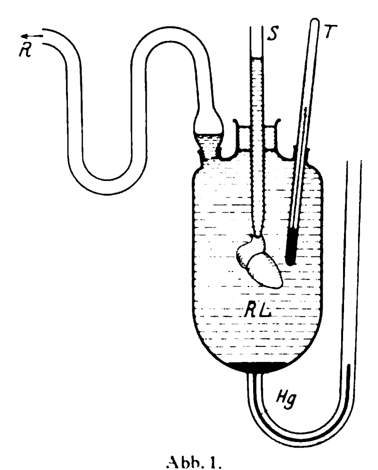


Abb. 1.
R Zum Rekorder, *S* Straubkanüle, *T* Thermometer, *Hg* Quecksilber, *RL* Ringerlösung.

Das methodisch Neue bei meinen Versuchen, verglichen mit denen von *Takahashi*, war die Benutzung der „*Kroneckerschen plethysmographischen Einrichtung für das Froschherz*", verbunden mit dem „*Asherschen Volumrekorder*". Diese Apparatur diente zur Prüfung der auf die oben beschriebene Weise gewonnenen Flüssigkeit auf das Herz des zweiten Versuchstieres. Der *Kronecker*sche Froschherzplethysmograph besteht kurz aus folgendem:

Das an der *Straub*schen Kanüle schlagende Herz steckt in einem flüssigkeitsgefüllten, wasserdicht abgeschlossenen Glasgefäß, dessen Inneres durch ein doppelt gebogenes U-Rohr und einen Schlauch mit dem *Asher*schen Volumrekorder verbunden ist.

Zu Beginn meiner Versuche benutzte ich das Verfahren von *Gottlieb* zur Volumenschreibung[1]). Im Prinzip fast dasselbe, wie der *Kronecker*sche Plethysmograph, scheint diese Methode uns jedoch den Nachteil zu besitzen, daß allfällig sich bildende Gerinnsel aus der doppelt gebogenen Kanüle sich viel schwerer, ja oft gar nicht entfernen lassen, was aber bei der geraden *Straub*schen Kanüle sehr leicht der Fall ist. Zur Volumenschreibung dient der *Asher*sche Volumrekorder, wie er von *Jost*[2]) beschrieben wurde.

Der Luftraum des Froschherzplethysmographen steht mit demjenigen eines leichten (unten offenen, oben geschlossenen) Celluloidzylinderchen, das auf Petroleum schwimmt, in Verbindung. Ein leichter Stahlhebel mit Achsenübertragung, am auf- und absteigenden Celluloidschwimmer befestigt, sorgt für genaue Wiedergabe der Volumenveränderungen am Kymographion. Bei Interpretation der Kurven ist zu bemerken, daß der aufsteigende Schenkel einer Systole, der absteigende einer Diastole entspricht. Diese Methode der Volumenregistrierung ist wesentlich genauer und zuverlässiger als diejenige mit der *Marey*schen Kapsel, die wir für die ersten Versuche in Anwendung brachten.

Ergebnisse, Diskussion der Kurven.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind in einer großen Zahl von Kurven wiedergegeben. Die Darstellung des Sachverhalts wird dadurch eine so anschauliche, daß es nur einer kurzen Kommentierung der Kurven bedarf. Daneben werden auch einige zu erwähnende Punkte genauere Besprechung finden.

Die erste Reihe meiner Versuche — *Versuchsreihe I* — befaßt sich mit dem Einfluß von gewöhnlicher Ringerlösung, die ich unmittelbar vor der Prüfung während einer halben Stunde durch die Leber strömen ließ, auf das Herz, im Vergleich zur Kontrollösung, womit ich genau dieselbe Lösung bezeichne, die *nicht* durch die Leber geflossen ist. Sämtliche Lösungen werden stets unmittelbar vor Versuchsbeginn aus den Stammlösungen frisch zubereitet.

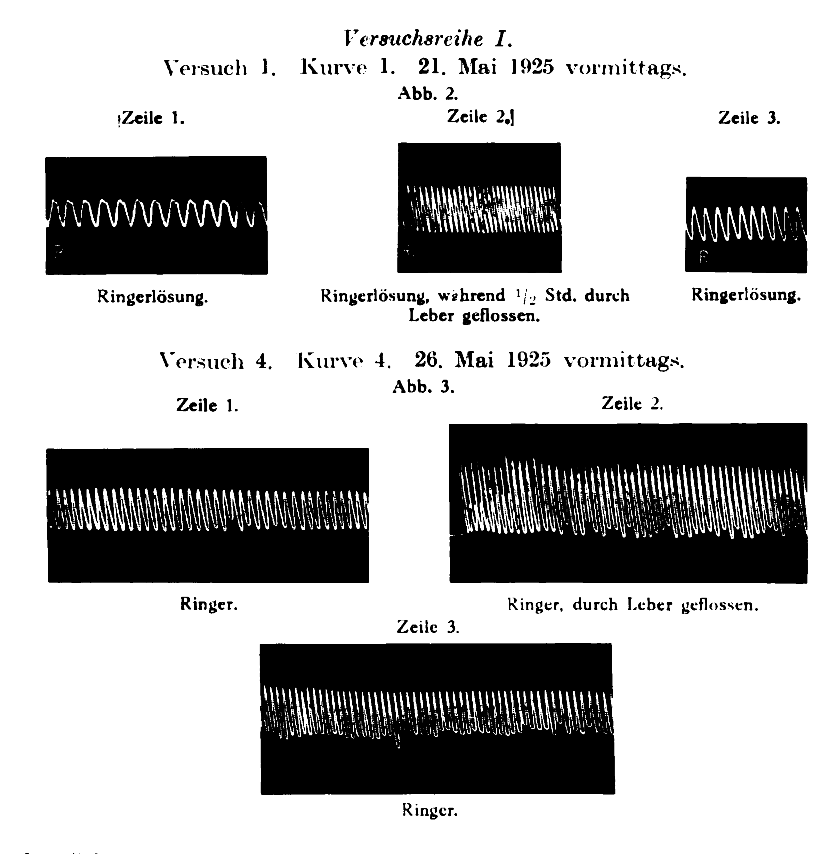
Kurve 1, vom 21. Mai 1925 vormittags, zeigt in Zeile 1 Schlagzahl und Schlagvolumen des Herzens, welches mit gewöhnlicher Ringerlösung beschickt wurde. Nach Entleerung dieser Flüssigkeit und gründlicher Auswaschung wurde in die *Straub*kanüle Ringerlösung, die kurz vorher die Leber durchströmt hatte, bis zu derselben Höhe der Flüssigkeitssäule eingefüllt. Zeile 2 zeigt einen Ausschnitt aus dieser Periode. Man sieht sehr deutlich die Verstärkung des Schlagvolumens und die Beschleunigung des Herzschlages. Sodann wurde das Herz nach mehrmaliger und gründlicher Ausspülung wieder mit Flüssigkeit

---

[1]) *Gottlieb*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 82, 1, 1917.

[2]) *Jost*, Zeitschr. f. Biol 64, 444, 1914.

der ursprünglichen Art versorgt. Wie in Zeile 3 ersichtlich ist, werden Schlagvolumen und Schlagfrequenz wieder kleiner. Dieselben Erscheinungen zeigt die Kurve 4. Ich will hier gleich bemerken, daß es stets einer 10- bis 15maligen Auswaschung bedurfte, um nach Entfernung der durch die Leber gegangenen Flüssigkeit den ursprünglichen Zustand wieder herzustellen, und auch dann war oft eine restitutio ad integrum nicht vollständig möglich, wenn auch stets eine starke Verminderung



Versuchsreihe I.
Versuch 1. Kurve 1. 21. Mai 1925 vormittags.
Abb. 2.
Zeile 1. Ringerlösung. — Zeile 2. Ringerlösung, während 1/2 Std. durch Leber geflossen. — Zeile 3. Ringerlösung.

Versuch 4. Kurve 4. 26. Mai 1925 vormittags.
Abb. 3.
Zeile 1. Ringer. — Zeile 2. Ringer, durch Leber geflossen. — Zeile 3. Ringer.

des Schlagvolumens und Verlangsamung des Herzschlags bei Füllung mit Flüssigkeit der ursprünglichen Art festzustellen war. Es läßt dies darauf schließen, daß die Stoffe aus der Leber, die die Beschleunigung und Verstärkung des Herzschlags bedingen, von langdauernder Wirksamkeit sind.

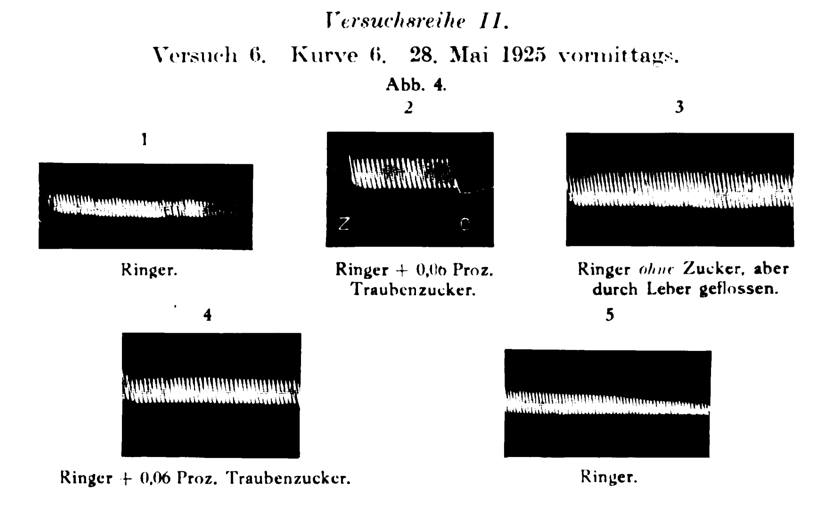
In *Versuchsreihe II* habe ich begonnen, der Ringerflüssigkeit einen Gehalt von 0,06 Proz. Traubenzucker beizufügen. Ich folgte hierbei dem Beispiel *Takahashis*, von der Überlegung ausgehend, daß die Zuckerproduktion auch in der überlebenden Kaltblüterleber nicht

sistiert und daher die Flüssigkeit nach wiederholter Leberpassage an Zuckergehalt gewinnt. Um daher die Einwände, daß es möglicherweise der aus der Leber stammende Zucker sei, der auf das Herz einen besonderen Einfluß auszuüben imstande wäre, zu zerstreuen, benutzte ich in Versuch 6 vom 28. Mai 1925 vormittags als Kontrollösung eine Ringerlösung von 0,06 Proz. Zuckergehalt, während der durch die Leber perfundierten Lösung kein Zucker beigefügt wurde. Es sollte sich nun zeigen, ob letzterer Lösung im Vergleich zur Kontrollösung trotzdem die Fähigkeit innewohnt, das Herz im Sinne einer Erhöhung von Schlagvolumen und Schlagzahl zu beeinflussen. Das Ergebnis dieses Versuchs

Versuchsreihe II.

Versuch 6. Kurve 6. 28. Mai 1925 vormittags.

Abb. 4.



1 Ringer. — 2 Ringer + 0,06 Proz. Traubenzucker. — 3 Ringer *ohne* Zucker, aber durch Leber geflossen. — 4 Ringer + 0,06 Proz. Traubenzucker. — 5 Ringer.

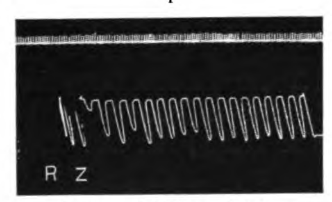
gibt Kurve 6 wieder. Zeile 1 zeigt die Herzarbeit bei Füllung mit gewöhnlicher Ringerlösung *ohne* Zucker, Zeile 2 die bloße Wirkung des Zuckergehalts von 0,06 Proz. in der gleichen Lösung, Zeile 3 in eklatanter Weise die starke Vergrößerung des Schlagvolumens und Erhöhung der Schlagfrequenz durch eine Lösung, welche keinen Zucker enthielt, die aber kurz vorher während einer halben Stunde die Leber perfundiert hatte. Zeile 4 stellt wieder den Zustand der Füllung mit zuckerhaltiger Ringerlösung — Rückgang der durch die Leberflüssigkeit ausgelösten Wirkungen — dar, und Zeile 5 endlich gibt uns den ursprünglichen Zustand von Zeile 1 wieder. Es hat sich somit gezeigt, daß die zuckerfreie Lösung beim Durchgang durch die Leber die Fähigkeit gewinnt, Schlagvolumen und Schlagfrequenz des Herzens dermaßen zu verstärken, wie es selbst eine Ringerlösung von 0,06 Proz. Zucker nicht vermag. Infolgedessen ist der Beweis erbracht, daß es nicht der nach Leberpassage erhöhte Zuckergehalt der Lösung ist, welcher die oben genannten Erscheinungen auslöst, denn die fördernde Wirkung der

Flüssigkeit aus der Leber ist sehr viel größer als bloß dem Zuckergehalt entsprechen würde. Von nun an wurde für alle späteren Versuche der 0,06proz. Zuckergehalt beibehalten. Um die Bedingungen für die Leberdurchströmung noch physiologischer zu gestalten, wurde auch die zur Leberpassage bestimmte Lösung mit 0,06 Proz. Zucker versehen.

Versuch 7. Kurve 7. 28. Mai 1925.

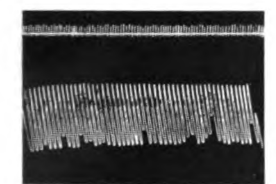
Abb. 5.

1



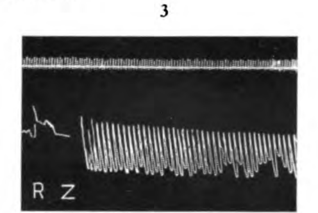
Ringer + 0,06 Proz. Zucker.

2



Ringer + 0,06 Proz. Zucker. 1/2 Std. durch Leber geflossen.

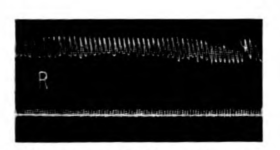
3



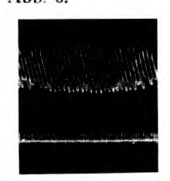
Ringer + 0,06 Proz. Zucker.

Versuch 15c. Kurve 15. 13. Juni 1925.

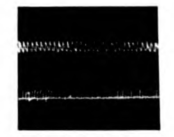
Abb. 6.



Ringer + 0,06 Proz. Zucker.



Ringer + 0,06 Proz. Zucker durch Leber gegangen.



Ringer + 0,06 Proz. Zucker.

Versuch 7 vom 28. Mai 1925 nachmittags zeigt in Zeile 1 die Herzarbeit mit 0,06 Proz. Zucker haltiger Ringerlösung; Zeile 2 zeigt uns die Veränderungen, wenn das Herz mit derselben Flüssigkeit, die aber durch die Leber gegangen ist, gefüllt wird: Vergrößerung des Schlagvolumens und Beschleunigung des Herzschlages. Zeile 3 gibt den annähernd ursprünglichen Zustand wieder. Dieselben Erscheinungen erkennen wir in dem Versuch 15 vom 13. Juni 1925.

In *Versuchsreihe III* habe ich es unternommen, anstatt Ringerlösung eine Mischung von solcher mit Blut zu benutzen. Wegleitend war hierbei derselbe Gedankengang, der mich zur experimentellen

Ausschaltung der Fehlerquelle durch veränderten Zuckergehalt geführt hatte. Hier handelt es sich um die „differenten Serumstoffe“ nach *Gottlieb* und *Freund*, die sich nach Aus- bzw. Durchspülung der Leber in der Perfusionsflüssigkeit finden und deren adrenalinähnliche Wirkung ich dadurch auszuschalten trachtete, daß ich sowohl der Perfusionsflüssigkeit wie auch der Kontrollösung von Anfang an eine bestimmte Menge Blutes zusetzte.

Versuch 8 vom 29. Mai 1925 zeigt als einleitenden Versuch die bloße Wirkung des Blutzusatzes zur Ringerlösung auf das arbeitende Herz. Zeile 1 notiert Schlagvolumen und Schlagzahl des Herzens bei Füllung mit 0,06 Proz. Zucker haltiger Ringerlösung. Zeile 2 zeigt die Erhöhung beider Komponenten durch Füllung mit einer Lösung von Ringer (0,06 Proz. Zucker haltig) mit Blut im Verhältnis 5 : 1.

Versuchsreihe III.

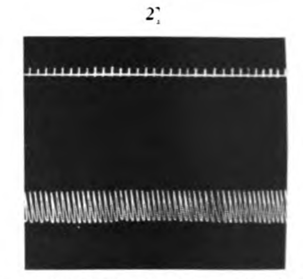
Versuch 8. Kurve 8. 29. Mai 1925 vormittags.

Abb. 7.

1

Ringer + 0,06 Proz. Zucker.

2



Ringer + 0,06 Proz. Zucker + Blut 5 : 1.

In dem Versuch 11 vom 11. Mai 1925 nachmittags wurde die Wirkung einer Mischung Ringerblut 5 : 1, die während $^1/_2$ Stunde durch die Leber gegangen war, geprüft. Zeile 1 zeigt jeweils die Herzarbeit mit der nicht durch die Leber gegangenen Blutmischung, Zeile 2 Erhöhung von Schlagvolumen und Schlagzahl bei Füllung mit der Blutmischung, die die Leber passiert hatte, Zeile 3 gibt die Rückkehr zum ursprünglichen Zustand bei Versorgung mit gewöhnlicher Blutmischung. Bei dieser Versuchsreihe hat sich allerdings gezeigt, daß die Perfusion einer Lösung Blut—Ringer 1 : 5 auf viel größere Schwierigkeiten stößt, als eine Durchspülung mit gewöhnlicher Ringerlösung. Stark erhöhte Viskosität und Gerinnselbildung sind wohl dafür verantwortlich zu machen. Außerdem vermochte auch die perfundierte Mischung 5 : 1 auf das Herz nicht diejenigen Wirkungen auszuüben, wie es die früheren Lösungen imstande waren. Wahrscheinlich wird es sich hier um eine Auslöschung der Leberwirkungen durch die relativ konzentrierte Blutmischung handeln. Eine glatte Durchströmung der

Leber während beliebiger Zeit erzielten wir dagegen mit einer Blut-Ringermischung im Verhältnis 1 : 10. Beispiele solcher Versuche zeigen die Kurvenausschnitte von

Versuchsreihe IV. In der Kurve 12 vom 12. Juni 1925 vormittags und nachmittags ist in Zeile 1 der normale Herzschlag bei Füllung einer

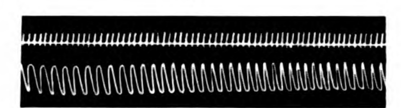
Versuch 11. Kurve 11. 11. Juni 1925 nachmittags.

Abb. 8.

1

Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 5 : 1.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 5 : 1 durch Leber geflossen.

3

Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 5 : 1.

Versuchsreihe IV.

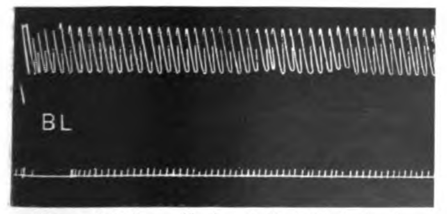
Versuch 12. Kurve 12. 12. Juni 1925 vormittags.

Abb. 9.

1

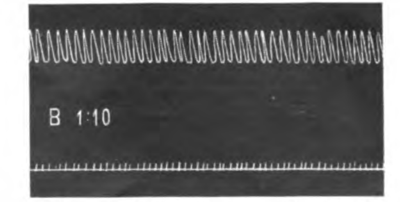
Ringer + 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 durch Leber geflossen.

3



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

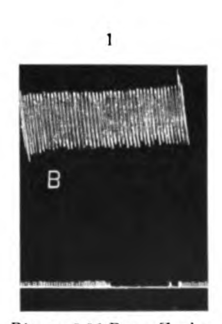
Ringer-Blutmischung 10 : 1 wiedergegeben. Deutlich äußert sich in Zeile 2 die auf Schlagvolumen und Schlagzahl verstärkende Wirkung einer durch die Leber gegangenen Mischung Ringer-Blut 10 : 1. Zeile 3 zeigt die Rückkehr zum Normalzustand bei Einfüllung von Flüssigkeit der ursprünglichen Art. Dieselbe Erscheinung, aber in viel deut-

licherem Maße, erkennen wir in den Versuchen 18, 19 und 20 vom 18. Juni 1925 vormittags und nachmittags. Die Klarheit dieser Kurven beruht zum großen Teil auf der Verwendung des *Asher*schen Volumrekorders.

Versuch 18. Kurve 18. 18. Juni 1925 vormittags.

Abb. 10.

1



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 durch Leber geflossen

3

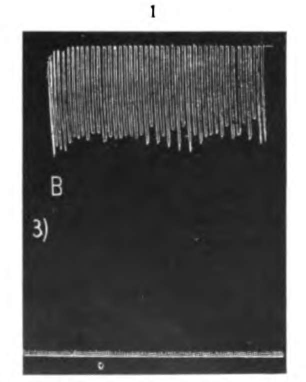


Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10:1.

Versuch 19b. Kurve 19b. 18. Juni 1925 vormittags.

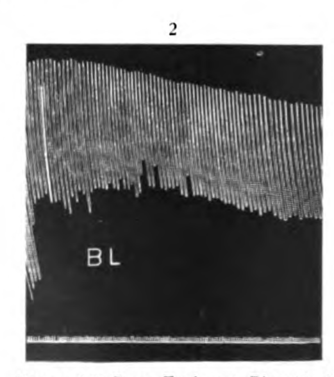
Abb. 11.

1



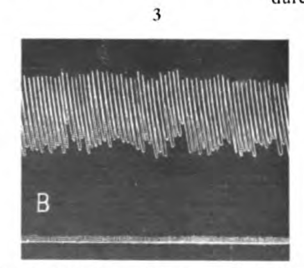
Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 durch Leber geflossen.

3

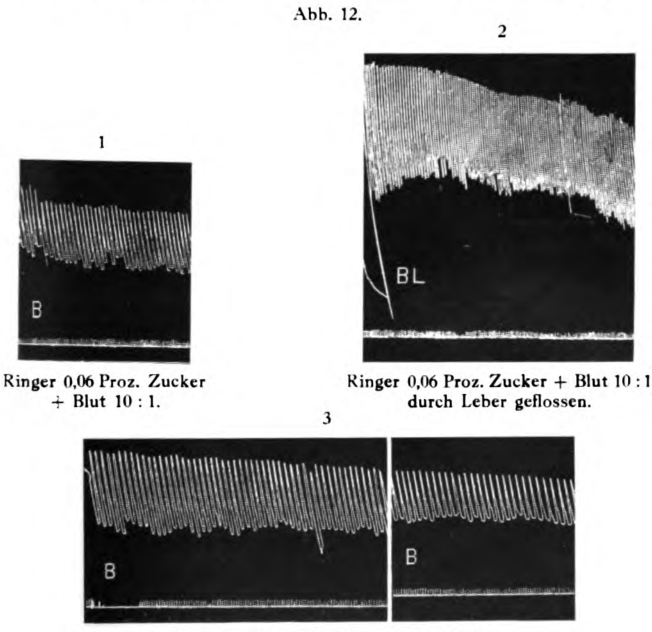


Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

Mit der Durchführung der *Versuchsreihe V* stellten wir uns die Aufgabe, den Einfluß des Traubenzuckers weiter zu verfolgen. Es wurde daher eine Anzahl von Versuchen angestellt, welche eine Ringerlösung von 0,09 Proz. Zuckergehalt (Kontrollösung) mit einer solchen von nur **0,06 Proz.** Zuckergehalt, die aber während einer halben Stunde durch die Leber gegangen war, in ihrer Wirkung auf das Herz vergleichen sollten. Mit aller wünschenswerten Deutlichkeit hat es sich

Versuch 20. Kurve 20. 18. Juni 1925 nachmittags.

Abb. 12.



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 durch Leber geflossen.

Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

hierbei gezeigt, daß eine Lösung von selbst geringerem Zuckergehalt, die die Leber durchströmt hat, auf das Herz einen größeren Einfluß auszuüben imstande ist, als eine Kontrollösung von höherem Zuckergehalt, die die Leber nicht passiert hat. Die fördernde Wirkung der Flüssigkeit aus der Leber ist dabei sehr viel größer als bloß dem Zuckergehalt entsprechen würde.

Versuche 21 und 22 vom 19. Juni 1925 zeigen in Zeile 1 den Herzschlag bei Füllung mit Ringerlösung von **0,06 Proz.** Zuckergehalt. Zeile 2 gibt die ausgesprochene Vergrößerung des Schlagvolumens und Erhöhung der Schlagfrequenz wieder, wenn die erste Lösung mit einer durch die Leber gegangenen 0,06 Proz. Zucker haltigen Ringerlösung vertauscht wurde. Als dritte Lösung wurde in Zeile 3 eine 0,09 Proz.

Zucker haltige Ringerlösung eingefüllt: Frequenz und Schlagvolumen sind im Vergleich zu Zeile 1 erhöht, wie ja nicht anders zu erwarten, im Vergleich zu Zeile 2 jedoch wesentlich vermindert. Versuch 23 gibt die Abstufungen in voller Klarheit wieder.

Versuchsreihe V.

Versuch 21. Kurve 21. 19. Juni 1925 vormittags.

Abb. 13.

1



Ringer + 0,06 Proz. Zucker.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker durch Leber.

3



Ringer 0,09 Proz. Zucker.

Versuch 22. Kurve 22. 19. Juni 1925 vormittags.

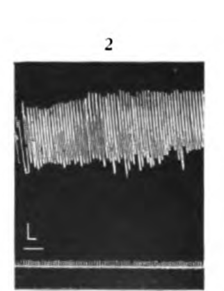
Abb. 14.

1



Ringer + 0,06 Proz. Zucker.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker durch Leber.

3



Ringer + 0,09 Proz. Zucker.

Versuch 23. Kurve 23. 19. Juni 1925 nachmittags.

Abb. 15.

1



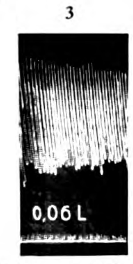
Ringer + 0,06 Proz. Zucker.

2



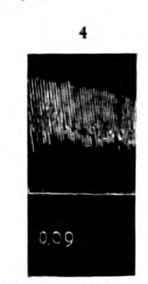
Ringer + 0,09 Proz. Zucker.

3



Ringer + 0,06 Proz. Zucker durch Leber.

4



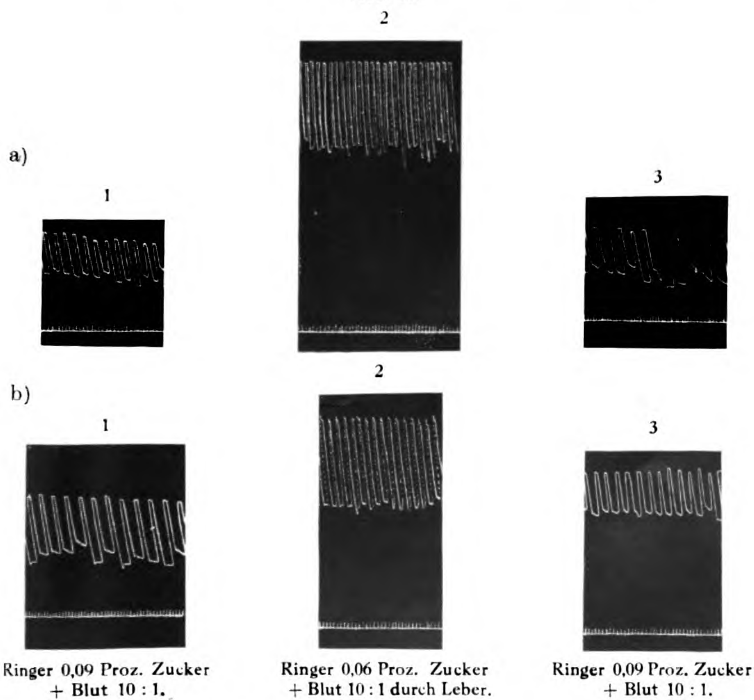
Ringer + 0,09 Proz. Zucker.

Es folgt nun eine *Versuchsreihe VI*, wo Lösungen von genau derselben Zusammensetzung in einer Mischung mit Blut 10 : 1 geprüft wurden. Von diesen Versuchen zeugen in augenfälliger Weise die Kurve 28 vom 26. Juni 1925, wobei Zeile 1 den Herzschlag bei Füllung mit **0,09 Proz.** Zucker haltiger Ringer-Blutmischung 10 : 1, Zeile 2, dessen Beeinflussung durch eine 0,06 Proz. Zucker haltige Ringer-Blutmischung 10 : 1, die eine halbe Stunde lang die Leber durchströmt

Versuchsreihe VI.

Versuch 28. Kurve 28. 26. Juni 1925 nachmittags.

Abb. 16.



Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 10 : 1. — Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 durch Leber. — Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 10 : 1.

hatte, Zeile 3 den Rückgang dieser Erscheinungen bei Füllung mit Flüssigkeit der ursprünglichen Art zeigt.

Es hatte sich somit erwiesen, daß der auf das Herz deutlich sympathisch erregende Einfluß einer Flüssigkeit, die vorher durch die Leber gegangen war, weder auf dem Zuckergehalt, noch auf dem Serum- bzw. Eiweißgehalt dieser Flüssigkeit beruhen könne. Es lag uns jedoch daran, gerade die Verhältnisse des Einflusses der *„differenten Serumbestandteile"* einer noch genaueren Prüfung zu unterziehen und weiter zu verfolgen.

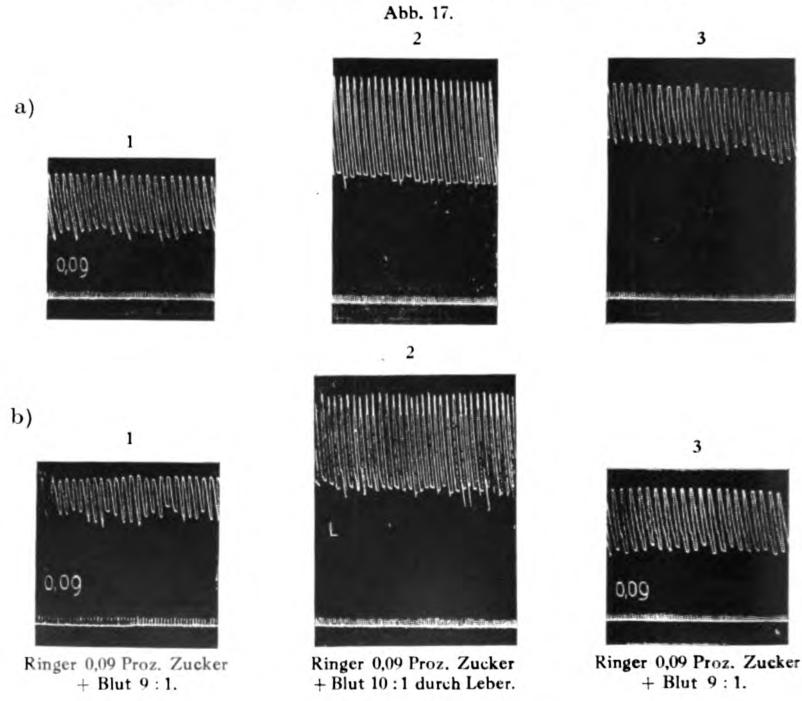
Ich stellte daher eine *Versuchsreihe VII* an und erschwerte die Bedingungen weiterhin dadurch, daß ich jener Lösung, die die Leber

zu durchströmen hatte, neben der verminderten Zuckermenge (0,06 statt 0,09 Proz.) noch eine im Vergleich zur Kontrollösung verminderte Menge Blutes zusetzte, indem ich die für die Leberperfusion bestimmte Ringerlösung auf einen Verdünnungsgrad von 10 : 1 brachte, während die Kontrollösung einen solchen von 9 : 1 besaß, ja ich ging zuletzt so weit, daß ich die Kontrollösung bis auf 8 : 1 konzentrierte, während die Leberflüssigkeit ihre Verdünnung 10 : 1 behielt. In drastischer Weise illustrieren die Kurven 29 und 30 vom 27. Juni 1925 die Re-

Versuchsreihe VII.

Versuch 29. Kurve 29. 27. Juni 1925 vormittags.

Abb. 17.



Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1. | Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 durch Leber. | Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1.

sultate dieser Versuche. Zeile 1 zeigt jeweils die Herztätigkeit bei Füllung der *Straub*schen Kanüle mit Blut-Ringerlösung 1 : 9 von 0,09 Proz. Zuckergehalt, Zeile 2 die durchgehend zutage tretende Verstärkung des Schlagvolumens und Beschleunigung des Herzschlags durch Blut-Ringerlösung 1 : 10 von nur 0,06 Proz. Zuckergehalt nach Leberpassage. Nach äußerst peinlicher Auswaschung folgte wiederum die Flüssigkeit der ursprünglichen Art — Zeile 3 —, was ein deutliches Zurückgehen der gesteigerten Funktionsäußerungen zur Folge hatte.

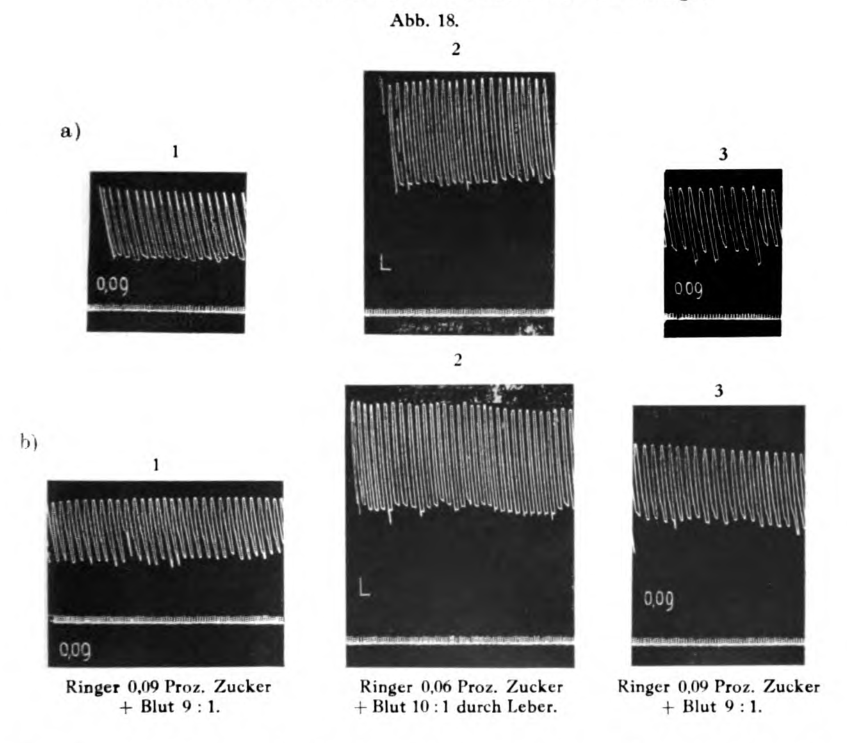
Um den letzten, möglicherweise fehlerbringenden Faktor auszuschließen, schien es geboten, die Blut-Ringerlösung zu puffern. Als Puffer wählte ich den folgenden Phosphatzusatz:

$$100\ \text{ccm}\ m/3\ NaH_2PO_4 + 15\ \text{ccm}\ m/3\ Na_2HPO_4$$

bildeten die *Stammlösung*, wovon auf 1000 ccm Ringerlösung 5 ccm entfielen. Der Zuckergehalt blieb in demselben Verhältnis wie in den früheren Versuchen, also 0,09 Proz. bei der Flüssigkeit, die nicht durch die Leber ging, 0,06 Proz. bei derjenigen, die die Leber perfundierte.

Versuch 30. Kurve 30. 27. Juni 1925 vormittags.

Abb. 18.



Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1. — Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 durch Leber. — Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1.

Die Blutverdünnung blieb ebenfalls dieselbe wie oben, ja es wurde sogar, wie oben angedeutet, die die Leber perfundierende Flüssigkeit noch relativ blutärmer gemacht.

Die Kurven dieser *Versuchsreihe VIII* bedürfen weniger Erklärungen mehr. In den Aufzeichnungen der Versuche 31 und 33 vom 29. und 30. Juni 1925 bedeutet stets Zeile 1 den Schlag des Herzens bei Füllung mit 0,09 Proz. Zucker haltiger Ringer-Blutmischung 9 : 1, Zeile 2 die vermehrte Tätigkeit in inotroper und chronotroper Hinsicht bei Füllung mit nur 0,06 Proz. Zucker haltiger Ringer-Blutmischung 10 : 1, die durch

die Leber gegangen war, während bei Zeile 3 wieder Flüssigkeit der ursprünglichen Art in das Herz geleitet wurde, was sich in der Rückkehr zur normalen Tätigkeit dokumentiert.

In den letzten Versuchen (37 und 38 vom 30. Juni, 1. und 2. Juli 1925) wurde geprüft, ob schließlich die erregende Wirkung der durch die Leber gegangenen Flüssigkeit von **0,06 Proz.** Zuckergehalt und Ver-

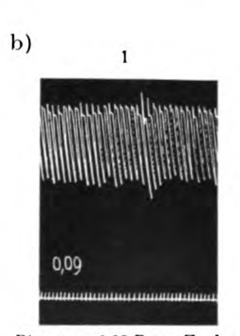
Versuchsreihe VIII.

Versuch 31. Kurve 31b. 29. Juni 1925.

Abb. 19.

b)

1



Ringer + 0.09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1 mit Phosphat.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 mit Phosphat durch Leber.

3



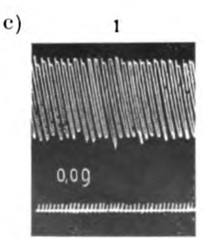
Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1 mit Phosphat

Versuch 31. Kurve 31. 29. Juni 1925.

Abb. 20.

c)

1



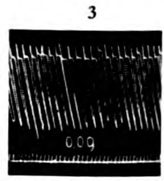
Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1 mit Phosphat.

2



Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 mit Phosphat durch Leber.

3



Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1 mit Phosphat.

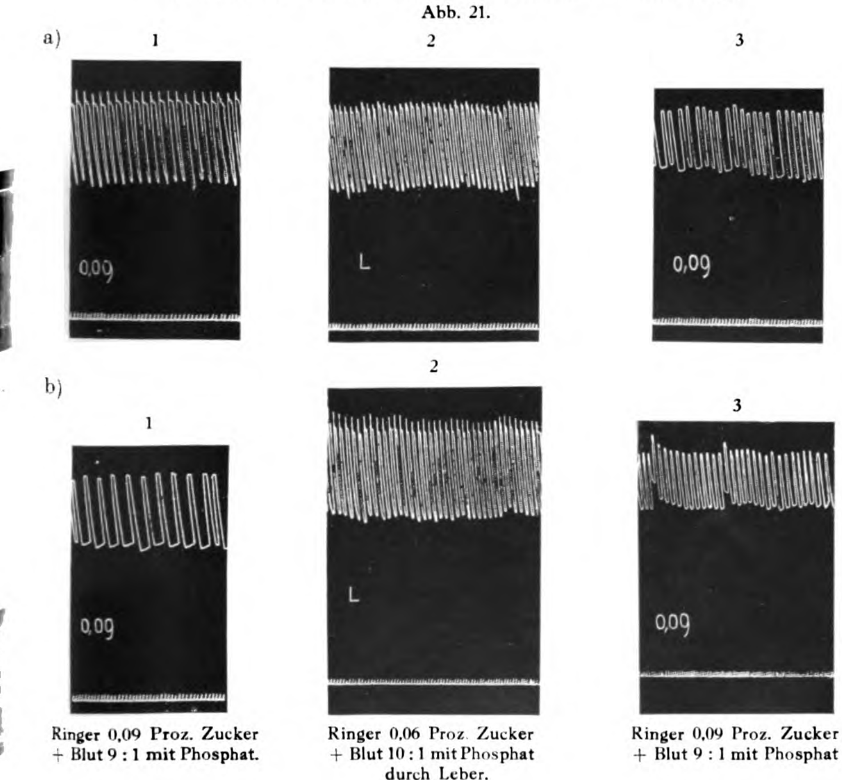
dünnung 1 : 10 (Zeile 2) noch den Vergleich auszuhalten imstande sei mit einer vorher und nachher geprüften, nicht durch die Leber gegangenen Flüssigkeit von **0,09 Proz.** Zuckergehalt und Verdünnung 1 : 8 (Zeilen 1 und 3). Es hat sich dies, den beigelegten Kurvenausschnitten zufolge, auf das Glänzendste bestätigt.

Blicken wir auf das Wesentliche meiner Resultate zurück, so ist gezeigt worden, daß die Flüssigkeit beim Durchströmen durch die Leber eine stoffliche Veränderung erfährt, die sie befähigt, die sympathischen

Mechanismen des Herzens im Sinne einer Vergrößerung des Schlagvolumens und Beschleunigung des Herzschlags zu beeinflussen. Der kritischen Erwägung der allfälligen Wirksamkeit der „differenten Serumprodukte" und des Zuckers, die die Flüssigkeit aus der Leber mit sich bringt, wurde so weit Rechnung getragen, daß der Beweis erbracht werden konnte, daß weder die Vergrößerung des Schlagvolumens, noch die Beschleunigung des Herzschlags auf vermehrtem

Versuch 33. Kurve 33. 29. Juni 1925 nachmittags.

Abb. 21.



Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1 mit Phosphat. — Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 mit Phosphat durch Leber. — Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 9 : 1 mit Phosphat

Zuckerreichtum oder Gehalt an differenten Bestandteilen des Serums beruht. *Es scheint daher der Beweis vorzuliegen, daß die Leber auf hormonalem Wege einen regelnden Einfluß auf die Herztätigkeit ausübt.* Es wird Aufgabe späterer Versuche sein, in das Wesen dieses unbekannten Stoffes, den man wohl als neues *Hormon* bezeichnen könnte, Licht zu bringen. Meine Resultate stehen in völliger Übereinstimmung mit den Ergebnissen der zurzeit noch nicht veröffentlichten Arbeit *Koboris,* der im Berner physiologischen Institut an der Säugetierleber und am Säugetierherzen dieselben Tatsachen gefunden hat.

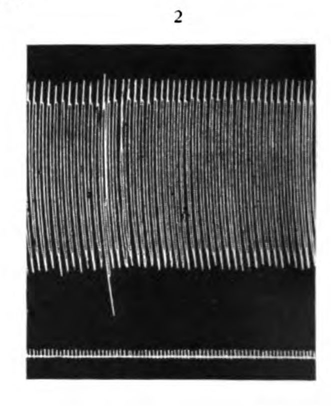
Versuch 37. Kurve 37. 30. Juni 1925 nachmittags.

Abb. 22.

a)

1

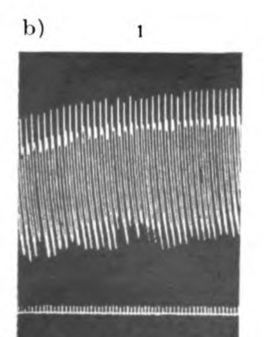
2



3

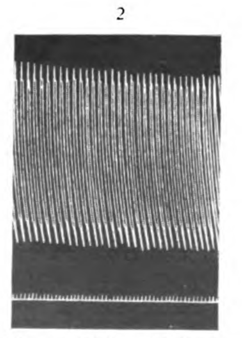
b)

1



Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 8 : 1 mit Phosphat.

2

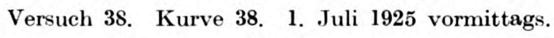


Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 mit Phosphat durch Leber.

3



Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 8 : 1 mit Phosphat.



Versuch 38. Kurve 38. 1. Juli 1925 vormittags.

Abb. 23.

a) 1 2 3

b) 1 2 3

Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 8 : 1 mit Phosphat.

Ringer 0,06 Proz. Zucker + Blut 10 : 1 mit Phosphat durch Leber.

Ringer 0,09 Proz. Zucker + Blut 8 : 1 mit Phosphat.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend, sind die Ergebnisse meiner Arbeit die folgenden:

1. Es wurde zum Nachweis der chemischen Regulation der Herztätigkeit durch die Leber als neue Methode eine Schlagvolumenregistrierung des Froschherzens benutzt.

2. Mit Hilfe dieser Methode konnte gezeigt werden, daß eine Ringerlösung, welche durch die Leber gegangen ist, im Vergleich zur Kontrollösung das Schlagvolumen des Herzens erhöht und die Schlagzahl vermehrt.

3. Um die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration auszuschließen, wurden nach *Broemser*, *Barkan* und *Hahn* stark gepufferte Lösungen benutzt, auch diese Lösungen bewirkten nach dem Durchgehen durch die Leber dieselben Erscheinungen.

4. Eine Lösung mit geringem Zuckergehalt, welche durch die Leber gegangen war, förderte das Schlagvolumen und die Schlagzahl des Herzens viel mehr als die normale Kontrollösung mit höherem Zuckergehalt.

5. Bei Vergleich einer Mischung von Blut und Ringer oder Blut und Broemserlösung, welche durch die Leber gegangen war, mit einer normalen Kontrollösung, deren Blutgehalt größer war, als derjenige der durch die Leber perfundierten Lösung, ergab sich, daß die durch die Leber hindurchgegangene Flüssigkeit stärker auf Schlagvolumen und Schlagfrequenz wirkte.

6. Aus diesen Tatsachen folgt, daß die Leber einen Stoff an die Perfusionsflüssigkeit abgibt, welcher Schlagvolumen und Schlagzahl des Herzens im Sinne sympathischer Erregung fördert, und daß diese Wirkung weder auf einer Änderung der Wasserstoffzahl, noch auf einem vermehrten Zuckergehalt, noch auf den differenten Stoffen des Serums beruht.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 87.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Schilddrüse, Thymus, Milz und Knochenmark.

Von

Hideo Nakao.

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

In meiner voraufgegangenen Arbeit[1]) konnte ich den Nachweis führen, daß die Wegnahme von Schilddrüse und Thymus beim Kaninchen die Reaktionsfähigkeit desselben gegen Injektion von Nucleinsäure fast vollständig zum Verschwinden bringt. Am normalen Tiere besteht diese Reaktion in einer Hyperleucocytose. Diese Hyperleucocytose ist eine Reizbeantwortung des Knochenmarks: Somit besagte die von mir früher gefundene Reaktionslosigkeit des Kaninchens nach Entfernung der Schilddrüse und der Thymus eine geringere Anspruchsfähigkeit des Knochenmarks gegenüber den von mir gewählten Reizbedingungen. Die verlorengegangene Reaktionsfähigkeit des Knochenmarks kehrte nach Exstirpation der Milz zurück. Aus dieser bemerkenswerten Tatsache wurde der Schluß gezogen, daß der Wegfall der Milz der Beseitigung einer Hemmung gleichgesetzt werden könne. Auf den physiologischen Zustand bezogen, bedeuteten die von mir gefundenen Tatsachen in Bestätigung der Anschauung, welche *Asher* und seine Mitarbeiter vertreten, daß die Schilddrüse des Kaninchens, unterstützt von der Thymus, einen fördernden, die Milz jedoch einen hemmenden Einfluß auf das Knochenmark ausübt.

Da diesen Schlüssen eine nicht geringe Bedeutung für die Erweiterung unserer Kenntnisse hinsichtlich der Funktionen des Knochenmarks und deren Regelung durch Schilddrüse, Thymus und Milz zukommt, erschien es angezeigt, diesen Schlüssen eine größere Sicherheit durch Verbreiterung der experimentellen Basis zu geben. Aus diesem

[1]) *H. Nakao*, diese Zeitschr. **163**, 161, 1925.

Grunde folgte ich der Anregung von Herrn Prof. *Asher*, mit einer neuen Versuchsanordnung die genannten Beziehungen zu untersuchen. Die Untersuchung sollte sich anderer, wenn auch wesensgleicher Methoden bedienen, um die erörterten Probleme einer Prüfung zu unterziehen. Es handelte sich darum, andere Reizmittel dosierbarer Art des Knochenmarks aufzufinden, um den Einfluß der genannten Drüsen mit innerer Sekretion auf die Knochenmarksfunktion zu prüfen. Als Ausdruck der Knochenmarkreizung stehen dem Experimentalforscher für genauere Untersuchung zurzeit nur die Regeneration der roten Blutkörperchen und die Bildung derjenigen weißen Blutkörperchen, welche dem Knochenmark entstammen, zur Verfügung. Reizmittel, welche auf die genannten Bildungen einzuwirken vermögen, sind einige bekannt. In erster Linie dachte ich an die Benutzung des Sauerstoffmangels. In einigen vorausgegangenen Arbeiten des Berner physiologischen Instituts ist auch von dem Sauerstoffmangel als Erforschungsmethode für die genannten Fragen Gebrauch gemacht worden. Auch ich habe versucht, den Sauerstoffmangel zu verwenden, und zwar in der Form, daß ich Kaninchen eine Zeitlang in einer Unterdruckkammer beließ und untersuchte, ob das Verhalten der roten Blutkörperchen und der weißen Blutkörperchen ein verschiedenes sei, je nachdem das dem Unterdruck ausgesetzte Tier ein normales, ein schilddrüsen- und thymusloses, ein milzloses und ein schilddrüsen-, thymus- *und* milzloses war. Eine ganze Reihe zum Teil recht umständlicher Versuche führten aber zu einem nicht hinreichend befriedigenden Resultat, wesentlich aus methodischen Gründen. Ich schritt daher zu einem anderen Verfahren, wozu durch die schöne Entdeckung von *Förster* und *Löwy*[1]) Gelegenheit geboten war. *Förster* und *Löwy* haben gezeigt, daß, wenn man Kaninchen eine Zeitlang unter vermindertem Druck hält, in ihrem Blute Stoffe auftreten, welche die Regenerationsfähigkeit des Blutes fördern. Diese Stoffe nennen die genannten Autoren Hämopoëtin. Das Hämopoëtin wäre demnach ein neues Reizmittel für das Knochenmark. Deshalb beschloß ich, die nachfolgenden Untersuchungen unter Anwendung von Hämopoëtin anzustellen.

Der Plan meiner nachfolgenden Arbeit gestaltete sich im wesentlichen so wie derjenige meiner voraufgehenden Mitteilung. Es handelte sich darum, zuerst beim normalen Kaninchen die Reaktion der Tiere auf Hämopoëtin festzustellen, indem nach einem Blutentzug die Regenerationsgeschwindigkeit des Blutes ohne und mit Hämopoëtinanwendung verfolgt wird. Dann sollte den Tieren sukzessive Schilddrüse und Thymus und sodann die Milz entfernt und nach diesen Operationen in der gleichen Weise die Blutregeneration studiert werden.

[1]) *Förster* und *Löwy*, diese Zeitschr. **145**, 309, 1924.

Methodik.

Die Auswahl der Kaninchen für die nachfolgenden Versuche geschah, wie ich das in meiner voraufgehenden Mitteilung beschrieben habe. Auch die Operationen wurden in der üblichen Weise ausgeführt.

Das Hämopoëtin wurde genau nach den Vorschriften von *Förster* und *Löwy* hergestellt. In eine hinreichend große pneumatische Kammer wurde ein normales Kaninchen mit Futter 2 Tage lang hineingebracht. Die Luft in der Pumpe wurde mit einer starken Wasserstrahlpumpe bis zu Druckwerten von 480 bis 410 mm Hg abgesaugt und dieser Druck unter dauernder Kontrolle durch ein Barometer aufrechterhalten.

In dem Serum der so behandelten Tiere bildet sich das Hämopoëtin. Um Hämopoëtin zu gewinnen, entnahm ich Blut von der Carotis und zentrifugierte es, um ein klares Serum zu erhalten. Das steril gewonnene Serum konnte im Eisschrank eine Zeitlang unverändert aufbewahrt werden. Das Hämopoëtin enthaltende Serum habe ich in Mengen von 3,5 bis 4 ccm am Tage nach dem Blutentzug intraperitoneal injiziert.

Den Blutentzug habe ich anfänglich aus einer Carotis bewerkstelligt, habe aber das Verfahren, weil umständlich und bei Wiederholung für das Tier eingreifend, verlassen. Anstatt dessen habe ich das Blut mit Hilfe einer von mir angefertigten Saugglocke aus einer Ohrvene entnommen und dabei mit Leichtigkeit ungefähr 20 bis 35 ccm Blut erhalten.

Die Saugglocke ist ein einfacher Glaszylinder, dessen innerer Durchmesser 3 cm und dessen Länge 12 cm beträgt. Der Zylinder ist groß genug, um den ganzen Ohrlappen des Kaninchens aufzunehmen. Das eine Ende der Saugglocke dient als Saugmund, und dessen Rand ist deshalb zweckmäßig leicht eingekerbt, um in der Temporalgegend luftdicht aufzusitzen. Das andere Ende ist verschlossen: etwas oberhalb des Bodens befindet sich ein bogenförmig gekrümmtes Glasrohr, welches vermittelst eines Gummischlauches mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden wird. In der mittleren Höhe des Zylinders befindet sich eine größere Öffnung, die in Verbindung mit einem Reagenzglas als Ausflußmündung des Blutes dienen soll.

Die entnommenen Blutmengen entsprechen ungefähr $^1/_{80}$ bis $^1/_{90}$ des Körpergewichts. Obwohl diese Blutmenge anscheinend keine sehr große ist, ist dieser Blutentzug, namentlich wenn er wiederholt werden muß, für das Tier nicht gleichgültig. Manche Tiere magern im Laufe der ersten Woche ab, um sich in der nachfolgenden Woche allmählich zu bessern. Werden mehrfache Operationen ausgeführt, so ist, wie wir bald sehen werden, der Blutentzug noch folgenschwerer.

Die Zählung der roten Blutkörperchen und die Bestimmung des Hämoglobingehaltes erfolgten mit den Apparaten von *Sahli*. Die Methodik wurde gemäß den bekannten Angaben von *Sahli* ausgeführt.

Die Schilddrüse und die Thymus wurden in den Versuchen dieser Arbeit stets gleichzeitig exstirpiert. Dies konnte deshalb geschehen, weil hinreichende Erfahrungen über die Folgen der einfachen und der doppelten Operation am Kaninchen vorliegen, namentlich aber durch die Untersuchungen des Berner physiologischen Instituts bekannt ist, daß — wenigstens was die vorliegenden Reaktionen betrifft — die Entfernung der Thymus nur eine Verstärkung des Fortfalls der Schilddrüse bedeutet. Die Milz wurde dann in einer späteren Sitzung exstirpiert. Selbstverständlich habe ich auch zu Vergleichszwecken Tiere in Arbeit genommen,

bei denen ausschließlich die Milz entfernt wurde. Die Operationsmethoden habe ich ausführlich in meiner voraufgehenden Arbeit besprochen.

Großen Schwierigkeiten begegnete ich anfänglich bei den Tieren, denen die Milz exstirpiert worden war. Von sechs operierten Tieren überlebte nur ein einziges lange Zeit. Die fünf anderen starben alle im Verlauf der ersten Woche, ohne daß durch die Sektion eine Todesursache auffindbar war. Diese Tatsache brachte mich auf die Vermutung, daß der voraufgehende Blutentzug die Ursache der geringen Widerstandsfähigkeit der Tiere nach der Milzexstirpation sei. Die Vermutung erwies sich als richtig, denn als ich den großen Blutentzug vor der Milzexstirpation unterließ, überstanden die Tiere die Milzexstirpation und konnten zu den nachfolgenden Untersuchungen, die mit einem Blutentzug verknüpft waren, ohne Gefahr benutzt werden.

Die Untersuchung von Kaninchen erst nach der Milzexstirpation mit Unterlassung des Vorversuchs vor der Exstirpation ist deshalb unbedenklich, weil ich über eine große Anzahl von Versuchen an normalen Tieren verfüge, bei denen das Regenerationsvermögen geprüft wurde, und daher das Verhalten am Normaltier bekannt war.

Ganz anders lagen die Dinge bei den Tieren, denen die Schilddrüse und die Thymus exstirpiert wurden. Von elf operierten Tieren sind nur drei gestorben. Es muß daher das schlechte Überleben der Tiere nach der Milzexstirpation mit dem Fortfalle der Milz in einem engeren Zusammenhang stehen. Besonders gefährdet waren die Tiere, bei denen Schilddrüse und Thymus entfernt worden waren, einmaliger oder mehrfacher Blutentzug ausgeführt wurde, und bei denen dann die Milz weggenommen wurde. Es könnte die Tatsache der geringen Resistenz der milzexstirpierten Tiere mit der von manchen Seiten behaupteten, auf die Milzexstirpation folgenden Anämie in Zusammenhang gebracht werden. Ist ein großer Blutentzug gemacht worden. und folgt auf die Milzexstirpation notwendigerweise eine Anämie, so muß natürlich das Tier sehr gefährdet sein. Es scheint mir aber diese Auffassung nicht zutreffend, schon deshalb nicht, weil nicht notwendigerweise auf die Milzexstirpation eine in Betracht kommende Anämie erfolgen muß. Es sprechen auch andere, hier nicht zu erörternde Gründe dagegen, es scheint mir vielmehr, daß die Entfernung von Schilddrüse, Thymus und Milz bei voraufgehendem Blutentzug deshalb so schwer verträglich ist, weil der Organismus bei Fehlen aller drei Organe in seinem Kompensationsvermögen zu sehr herabgesetzt ist. Es bleibt jedenfalls die Tatsache, daß die dreifache Operation mit Blutentzug ein sehr schwerer Eingriff ist, beachtenswert und verdient eine weitere Untersuchung.

Ich betrachte zunächst das Regenerationsvermögen der roten Blutkörperchen unter den verschiedenen Bedingungen meiner Versuche. Zur Übersicht über meine Ergebnisse bringe ich zusammenfassende Tabellen, in denen die Blutkörperchenmenge vor dem Blutentzug = 100 Proz. gesetzt ist und die Blutkörperchenmengen am 1. bis 15. Tage nach dem Blutentzug in Prozenten des Ausgangswertes ausgedrückt sind. Aus diesen Prozentzahlen geht der Umfang der Regeneration hervor, während die zu jeder Versuchsreihe beigegebene Kurvendarstellung nicht bloß den Umfang, sondern auch die Geschwindigkeit der Regeneration deutlich veranschaulicht.

Die erste Versuchsreihe ist am normalen Tier angestellt und verfolgt unter a) die Regeneration nach dem Blutentzug; sodann folgt am Normaltier der Blutentzug und Injektion von Hämopoëtin am Tage nach dem Blutentzug. Diese Versuchsreihe ist aus b) ersichtlich. Sowohl aus den

A. Regenerationsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen in Prozenten ausgedrückt.

Tabelle I.

Bei normalen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug	Nach dem Blutentzug						
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	6. Tag	11. Tag	15. Tag
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
			a) Kontrolltiere.					
2	100	70	63	62	72	65	71	82
3	100	79	68	70	79	86	106	—
6	100	70	75	79	73	78	81	76
9	100	75	76	71	79	81	89	—
11	100	77	78	79	80	90	96	—
12	100	64	64	69	72	75	87	—
15	100	74	71	76	78	83	79	—
Durchschnitt	100	73	71	72	76	80	87	—
			b) Versuchstiere.					
1	100	73 (Injektion v. Hämopoëtin)	71	87	84	87	93	96
4	100	69	79	87	93	95	107	—
5	100	72	75	80	85	94	94	103
7	100	74	76	89	87	89	91	87
8	100	59	76	77	81	80	92	—
10	100	70	79	86	88	94	102	—
13	100	62	83	83	91	104	98	—
14	100	65	79	80	83	99	102	—
16	100	68	66	86	87	93	—	—
Durchschnitt	100	68	76	84	86	93	97	—

Protokollen (Tabelle I) wie aus (Kurve 1) geht deutlich hervor, daß sowohl der Umfang wie die Geschwindigkeit der Regeneration der roten Blutkörperchen infolge der Injektion von Hämopoëtin stärker ist. Diese Reihe gibt eine volle Bestätigung der Angaben von *Förster* und *Löwy*. Das Ergebnis dieser Reihe bildet nun die Grundlage, um die in der Einleitung auseinandergesetzten Prüfungen anzustellen, da ja das Hämopoëtin als ein brauchbares Reizmittel sich erwiesen hat und die Menge des injizierten Hämopoëtins in einer für biologische Zwecke hinreichenden Genauigkeit sich dosieren läßt.

Die nächsten beiden Versuchsreihen beschäftigen sich mit dem Vergleich der Regeneration der Blutkörperchen am schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen sowie am milzlosen Kaninchen, einmal bei bloßem Blutentzug, das andere Mal bei Blutentzug und nachfolgender Hämopoëtininjektion.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe bringe ich in Tabelle II und III und in den Kurven 2 und 3.

Was die schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen anbelangt, so ist das bemerkenswerteste Ergebnis das, daß die Reaktion auf Hämopoëtin vollständig ausbleibt. Namentlich aus der kurvenmäßigen Darstellung geht hervor, daß bei den Kontrolltieren die Regeneration eher etwas größer ist als bei den Tieren mit Hämopoëtininjektion. Auf den nicht sehr großen Unterschied muß deshalb hingewiesen werden, weil er jedenfalls das Fehlen der positiven Hämopoëtinreaktion bekräftigt. Es ist dieses Ergebnis an den schilddrüsen- und thymuslosen Tieren ganz in Übereinstimmung mit

Tabelle II.
Bei schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug Proz.	Nach dem Blutentzug 1. Tag Proz.	2. Tag Proz.	3. Tag Proz.	4. Tag Proz.	5. Tag Proz.	7. Tag Proz.	14. Tag Proz.
a) Kontrolltiere.								
2	100	69	67	72	71	70	81	—
6	100	75	82	84	81	87	93	98
9	100	73	75	82	80	83	84	81
Durchschnitt	100	72	75	79	77	80	86	90
b) Versuchstiere.								13. Tag
5	100	81 } Injekt. v. Hämopoetin	81	84	77	81	81	92
8	100	66 } Injekt. v. Hämopoetin	68	70	74	76	79	78
10	100	71 } Injekt. v. Hämopoetin	79	74	81	87	87	93
Durchschnitt	100	73	76	76	77	81	82	88

Tabelle III.
Bei milzlosen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug Proz.	Nach dem Blutentzug 1. Tag Proz.	2. Tag Proz.	3. Tag Proz.	4. Tag Proz.	5. Tag Proz	7. Tag Proz.	11. Tag Proz.
a) Kontrolltiere.								
18	100	57	61	59	61	67	69	66
20	100	81	76	79	89	90	89	84
Durchschnitt	100	69	69	69	75	79	79	75
b) Versuchstiere.								10. Tag
16	100	73 } Injekt. v. Hämopoetin	69	86	84	86	87	87
17	100	53 } Injekt. v. Hämopoetin	65	70	71	72	75	72
19	100	65 } Injekt. v. Hämopoetin	72	78	81	79	79	84
Durchschnitt	100	64	69	78	79	79	80	81

den einschlägigen bisherigen Erfahrungen, namentlich mit denjenigen, welche ich in meiner früheren Arbeit mitgeteilt habe: sie sind demnach als neue Stützen für die Auffassung anzusehen, daß die Leistung des Knochenmarks durch das Vorhandensein von Schilddrüse und Thymus gefördert wird.

Was die Versuche an den milzlosen Kaninchen anbelangt, so ist im Vergleich zu den Normaltieren die Reaktion auf Hämopoëtin sehr viel geringer, ja anscheinend kaum vorhanden. Nur bei näherem Zusehen sieht man aus der kurvenmäßigen Darstellung eine etwas größere Geschwindigkeit der Regeneration. Wir begegnen hier wieder der bekannten Kompliziertheit der Folgen der Milzexstirpation, die je nach den im einzelnen nicht leicht zu übersehenden korrelativen Verhältnissen der Organfunktionen in antagonistischer Weise sich auswirken können.

Ein besonderes Interesse kommt der letzten Versuchsreihe zu, deren Ergebnisse ich in Tabelle IV und in Kurve 4 mitteile. Es handelt sich um die Beobachtungen am schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen, und zwar nach bloßem Blutentzug und nach dem Blutentzug mit nachfolgender Hämopoëtininjektion.

Tabelle IV.

Bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug Proz.	Nach dem Blutentzug 1. Tag Proz.	2. Tag Proz.	3. Tag Proz.	4. Tag Proz.	5. Tag Proz.	7. Tag Proz.	11. Tag Proz.
a) Kontrolltiere.								
6	100	75	74	76	77	78	82	88
23	100	78	73	75	82	94	102	105
24	100	84	81	79	83	81	82	97
Durchschnitt	100	79	76	77	81	84	89	97
b) Versuchstiere.								
8	100	68 (Injekt. v. Hämopoetin)	69	85	89	90	91	102
21	100	69 (Injekt. v. Hämopoetin)	70	80	77	84	89	95
22	100	72 (Injekt. v. Hämopoetin)	76	87	96	94	96	101
Durchschnitt	100	70	72	84	87	89	92	99

Sowohl aus den Protokollen wie namentlich aus der Kurve geht deutlich hervor, daß eine gewisse Anspruchsfähigkeit auf Hämopoëtininjektion bei den dreifach operierten Tieren wiedergekehrt ist. Wenn auch die absoluten Unterschiede nicht sehr groß sind, so sind sie um so höher zu bewerten, weil, wie wir gesehen haben, bei zahlreichen Versuchen an schilddrüsen- und thymuslosen Tieren die Hämopoëtinreaktion ganz ausgefallen war. Ferner wird man dem Resultat auch aus dem Grunde Gewicht beimessen müssen, als es ja vollständig im Einklang mit den mit einer ganz anderen Methode in meiner früheren Arbeit gewonnenen Erfahrungen steht, wo die Hyperleucocytose auf Nucleinsäurereaktion nach Entfernung der Milz an den schilddrüsen- und thymuslosen Tieren wiederkehrte.

Die hier geschilderte Erscheinung spricht meines Erachtens sehr zugunsten der Annahme, daß die Knochenmarksfunktion nach Entfernung von Schilddrüse und Thymus nicht bloß deshalb unterwertig ist, weil die beiden genannten Organe fehlen, sondern auch deshalb, weil die noch vorhandene Milz einen hemmenden Einfluß auf das Knochenmark ausübt. Wenn auch der chemische Weg dieser Hemmung noch nicht angebbar ist, so haben sich doch die Tatsachen gehäuft, welche dieser Hemmungsfunktion der Milz das Wort reden. Auch von anderer Seite sind mit Hilfe anders gearteter Untersuchungsmethoden Zeugnisse für die Hemmungsfunktion der Milz beigebracht worden. So sehr ich auf Grund meiner Untersuchungen die genannte Hemmungsfunktion der Milz betonen möchte, so möchte ich doch andererseits nicht unterlassen, ausdrücklich davon zu reden, daß hiermit auch auf diesem Gebiete die Funktion der Milz nicht erschöpft ist. Die Milz besitzt auch funktionelle Momente, die in entgegengesetzter Weise fördernd wirken. Da diese Momente nicht Gegenstand meiner Untersuchungen gewesen sind, erübrigt es sich, an dieser Stelle auf dieselben einzugehen.

Zur weiteren Übersicht über die Gesamtheit meiner Versuche bringe ich noch eine Tabelle, in der die Differenz der Regenerationsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen am dritten und vierten bzw. siebenten Tage nach dem Blutentzug im Vergleich zum ersten Tage nach dem Blutentzug prozentisch ausgedrückt ist.

Tabelle V.

Prozentischer Unterschied der Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins zwischen dem ersten und dritten, sechsten bzw. siebenten Tage nach dem Blutentzug.

	3. Tag Proz.	6. Tag Proz.
I. Bei normalen Kaninchen.		
a) Kontrolltiere	— 1	+ 8
b) Versuchstiere	+ 16	+ 25
II. Bei schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen.		7. Tag
a) Kontrolltiere	+ 7	+ 14
b) Versuchstiere	+ 3	+ 9
III. Bei milzlosen Kaninchen.		
a) Kontrolltiere	— 5	+ 5
b) Versuchstiere	+ 14	+ 16
IV. Bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen.		
a) Kontrolltiere	— 2	+ 10
b) Versuchstiere	+ 14	+ 22

In einer zweiten Versuchsreihe mit der im übrigen ganz genau gleichen Anordnung habe ich die Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins untersucht. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe an den nicht operierten und operierten Kontrolltieren und Versuchstieren bringe ich in den Tabellen VI bis X und in den Kurven 5 bis 8. Im allgemeinen zeigen sich die Unterschiede sehr viel geringer. Hieraus folgt, daß vor allem die Bildung der Blutkörperchen selbst, nicht aber des Hämoglobins durch die von mir untersuchten Eingriffe gefördert wird. Nichtsdestoweniger treten aber, wenn auch in stark verkleinertem Maßstab, die in meiner früheren Versuchsreihe beobachteten Erscheinungen zutage. Es zeigte sich, daß die Entfernung der Schilddrüse und der Thymus die Anspruchsfähigkeit des Organismus auf Hämopoëtin unter den von mir gewählten Versuchsbedingungen aufhebt, und daß die Hinzufügung der Milzexstirpation die verschwundene Reaktion nie wieder zurückkehren läßt.

Ich bringe noch eine Tabelle der Differenzen der Regenerationsgeschwindigkeit, in welcher prozentisch ausgedrückt der Hämoglobingehalt am sechsten und siebenten Tage nach dem Blutentzug mit dem ersten Tage nach dem Blutentzug verglichen wird.

Aus der soeben geschilderten zweiten Versuchsreihe ging hervor, wenn man sie mit der ersten verglich, daß die Regenerationsgeschwindigkeit, bestimmt mit der Methode der roten Blutkörperchenzählung, größer ist, als wie man sie findet, wenn man das Hämoglobin bestimmt. Ich ziehe daraus den Schluß, daß das Hämopoëtin stärker auf die Bildung der roten Blutkörperchen als auf die Bildung des Hämoglobins wirkt. Um etwas mehr Einsicht in die Verhältnisse zu bekommen, habe ich in den Kurven 5 bis 8 die Verhältnisse der Blutkörperchen und Hämoglobinregeneration bei den verschiedenen Versuchsanordnungen dargestellt.

Aus denselben ergibt sich, daß bei normalen Tieren das Hämopoëtin stärker auf die roten Blutkörperchen wirkt. Da bei schilddrüsen- und thymuslosen Tieren die Hämopoëtinreaktion verschwindet, verläuft die

B. Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins.

Tabelle VI.

Bei normalen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug Proz.	Nach dem Blutentzug						
		1. Tag Proz.	2. Tag Proz.	3. Tag Proz.	4. Tag Proz.	6. Tag Proz.	11. Tag Proz.	15. Tag Proz.
a) Kontrolltiere.								
2	59	46	45	47	47	46	47	54
3	52	41	38	38	42	47	55	—
6	65	50	50	49	46	46	46	45
9	62	50	50	50	50	50	52	—
11	53	43	45	45	44	44	50	—
12	68	50	48	48	48	55	60	—
15	65	52	52	53	55	57	60	—
Durchschnitt	61	47	43	47	47	49	53	
Prozentsatz	(100)	(77)	(70)	(77)	(77)	(80)	(87)	
b) Versuchstiere.								
1	62	51 (Injektion v. Hämopoetin)	49	49	48	48	47	53
4	52	42	38	40	45	46	53	—
5	60	47	45	44	45	45	45	54
7	62	51	50	50	50	51	56	55
8	64	47	50	50	50	50	60	—
10	54	35	36	37	38	44	54	—
13	60	47	48	51	51	51	60	—
14	64	40	41	42	46	56	60	—
16	60	50	50	55	55	58	—	—
Durchschnitt	60	46	46	46	48	50	54	54
Prozentsatz	(100)	(77)	(77)	(77)	(80)	(83)	(90)	(90)

Tabelle VII.

Bei schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug Proz.	Nach dem Blutentzug						
		1. Tag Proz.	2. Tag Proz.	3. Tag Proz.	4. Tag Proz.	5. Tag Proz.	7. Tag Proz.	14. Tag Proz.
a) Kontrolltiere.								
2	62	47	45	43	45	45	49	—
6	48	42	45	45	46	48	48	50
9	50	40	41	43	45	43	44	45
Durchschnitt	53	43	44	44	45	45	47	48
Prozentsatz	(100)	(81)	(83)	(83)	(85)	(85)	(89)	(90)
b) Versuchstiere.								
5	54	45 (Injekt. v. Hämopoetin)	42	42	42	45	45	—
8	62	50	50	50	50	50	53	50
10	51	43	43	40	43	45	45	52
Durchschnitt	56	46	45	44	45	47	48	51
Prozentsatz	(100)	(82)	(80)	(79)	(80)	(84)	(86)	(91)

Kurve der Regeneration der roten Blutkörperchen im Gegensatz zu den Normaltieren niedriger. Bei den milzlosen Tieren verläuft die Hämoglobinreaktion stärker als die der roten Blutkörperchen, und das Überwiegen der Hämoglobinreaktion kommt auch noch in den Kurven zum Vorschein, die beim schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen aufgenommen wurden. Hier liegt demnach ein neuer Beweis dafür vor, daß tatsächlich durch Entfernung der Milz ein Zustand, der durch die Schilddrüsen- und Thymusexstirpation herbeigeführt wurde, wieder reversibel gemacht wird.

Tabelle VIII.

Bei milzlosen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug Proz.	Nach dem Blutentzug 1. Tag Proz.	2. Tag Proz.	3. Tag Proz.	4. Tag Proz.	5. Tag Proz.	7. Tag Proz.	11. Tag Proz.
a) Kontrolltiere.								
18	75	52	57	57	58	56	62	63
20	65	54	54	56	64	65	65	62
Durchschnitt	70	53	56	57	61	61	64	63
Prozentsatz	(100)	(76)	(80)	(81)	(87)	(87)	(91)	(90)
b) Versuchstiere.								
16	70	52 Injekt. v. Hämopoetin	60	60	60	61	62	61
17	76	52	57	59	60	62	67	65
19	76	60	64	65	68	68	68	70
Durchschnitt	74	55	60	64	63	64	66	65
Prozentsatz	(100)	(74)	(81)	(82)	(85)	(86)	(89)	(88)

Tabelle IX.

Bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen.

Tiernummer	Vor dem Blutentzug Proz.	Nach dem Blutentzug 1. Tag Proz.	2. Tag Proz.	3. Tag Proz.	4. Tag Proz.	5. Tag Proz.	7. Tag Proz.	11. Tag Proz.
a) Kontrolltiere.								
6	56	46	48	50	48	51	52	55
23	62	55	55	55	55	56	58	60
24	70	62	60	62	63	64	64	67
Durchschnitt	63	54	54	56	55	57	58	61
Prozentsatz	(100)	(85)	(85)	(89)	(87)	(90)	(92)	(97)
b) Versuchstiere.								
8	64	56 Injekt. v. Hämopoetin	55	55	61	60	60	64
21	62	46	46	47	48	52	52	63
22	63	55	57	60	60	62	62	65
Durchschnitt	63	52	53	54	56	58	58	64
Prozentsatz	(100)	(83)	(84)	(85)	(89)	(92)	(92)	(102)

Tabelle X.

Prozentischer Unterschied der Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins zwischen dem ersten und sechsten und siebenten Tage nach dem Blutentzug.

I. Bei normalen Kaninchen.

	6. Tag
a) Kontrolltiere	+ 3 Proz.
b) Versuchstiere	+ 6 „

II. Bei schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen.

	7. Tag
a) Kontrolltiere	+ 8 Proz.
b) Versuchstiere	+ 4 „

III. Bei milzlosen Kaninchen.

	7. Tag
a) Kontrolltiere	+ 15 Proz.
b) Versuchstiere	+ 15 „

IV. Bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen.

	7. Tag
a) Kontrolltiere	+ 7 Proz.
b) Versuchstiere	+ 9 „

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse der vorstehenden Arbeit die nachfolgenden:

1. Die von *Förster* und *Löwy* gemachte Entdeckung der Hämopoëtine wurde bestätigt.

2. Nach Entfernung von Schilddrüse und Milz verschwindet der Einfluß der Hämopoëtine auf die Blutkörperchenregeneration unter den obwaltenden Versuchsbedingungen.

3. Wird nach Entfernung von Schilddrüse und Thymus noch diejenige der Milz hinzugefügt, so kehrt die Anspruchsfähigkeit auf Hämopoëtin wieder.

4. Diese Tatsachen bestätigen auf eine neue Weise die schon durch frühere Arbeiten gestützte Annahme, daß die Schilddrüse im Verein mit der Thymus die Funktion der blutbildenden Stätten im fördernden, die Milz dieselbe im hemmenden Sinne regelnd beeinflußt. In erster Linie wird hierbei das Knochenmark bedacht.

5. Unter Hämopoëtineinfluß ist die Regeneration der roten Blutkörperchen, unter dem Einfluß des Fehlens der Milz ist die Regeneration des Hämoglobins relativ ausgesprochener.

6. Tiere, denen nach größerem Blutentzug und nach Entfernung von Schilddrüse und Thymus noch die Milz entfernt wird, können nur schwer am Leben erhalten werden: dies gelingt aber, wenn man von dem Blutentzug vor der Operation absieht, während der Blutentzug nach der Operation überstanden wird. Ein Erklärungsversuch für diese Tatsache wird in der Arbeit gegeben.

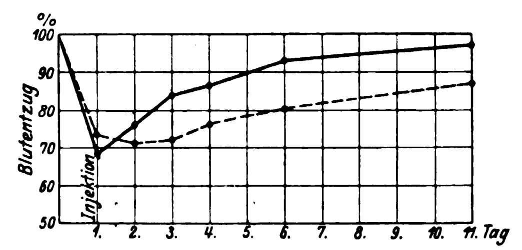


Abb. 1. Die Regenerationsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen bei normalen Kaninchen.

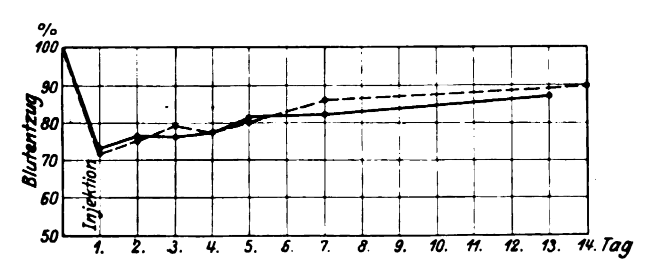


Abb. 2. Die Regenerationsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen bei schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen.

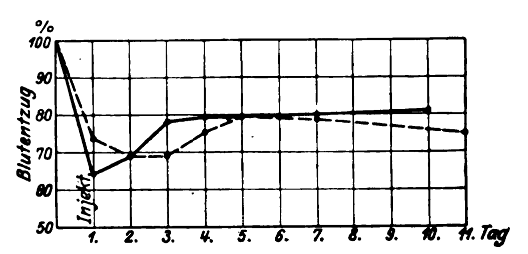


Abb. 3. Die Regenerationsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen bei milzlosen Kaninchen.

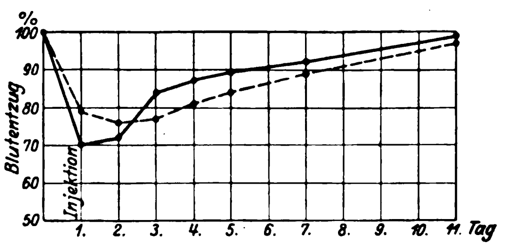


Abb. 4. Die Regenerationsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen.

—— Die Kurven der Versuchstiere. ----- Die Kurven der Kontrolltiere.

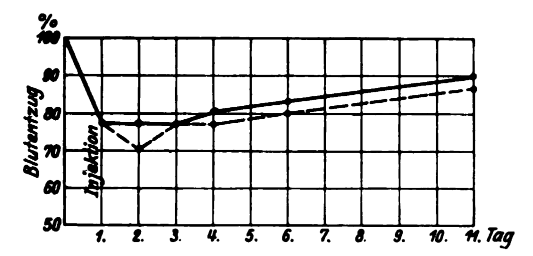


Abb. 5. Die Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins bei normalen Kaninchen.

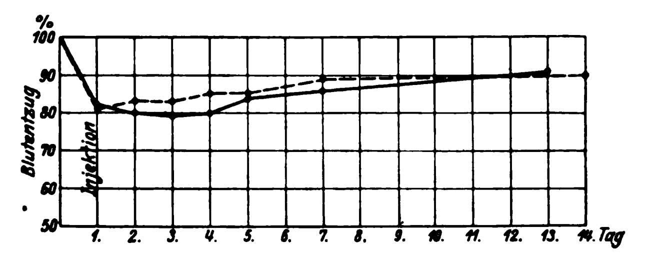


Abb. 6. Die Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins bei schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen.

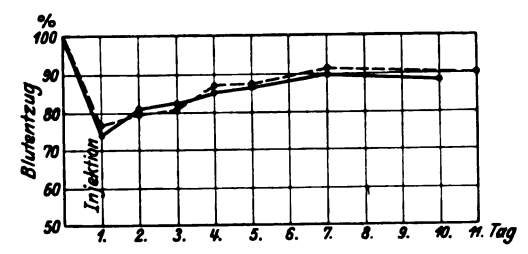


Abb. 7. Die Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins bei milzlosen Kaninchen.

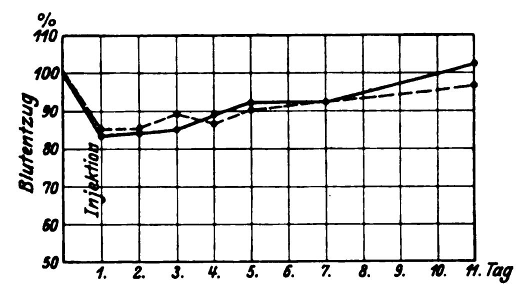


Abb. 8. Die Regenerationsgeschwindigkeit des Hämoglobins bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen.

—— Die Kurven der Versuchstiere. ----- Die Kurven der Kontrolltiere.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 88.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Thymus, Milz und Knochenmark.

Von

Hideo Nakao.

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

In zwei voraufgegangenen Untersuchungen habe ich den Nachweis geführt, daß Schilddrüse, Thymus und Milz einen regelnden Einfluß auf die Leistungen des Knochenmarks besitzen. Erstere wirken fördernd, die letztere wirkt hemmend ein. Diese Folgerungen wurden aus Tatsachen erschlossen, die nach Exstirpation der genannten Organe auftraten und in der Reaktion des Organismus auf Nucleinsäure und auf Hämopoëtin während der Blutregeneration nach Blutentzug sich zeigten. Um diese Folgerung zu sichern, erschien es geraten, auch den Versuch zu machen, dieselbe histologisch durch die Untersuchung des Knochenmarks zu stützen. Über das Gelingen dieses Versuchs berichtet die nachfolgende Arbeit.

Ich habe auf Anregung von Prof. *Asher* bei normalen, bei schilddrüsen- und thymuslosen, bei milzlosen sowie bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Kaninchen das Knochenmark histologisch untersucht. Die Untersuchungen wurden an je zwei Paar Tieren ausgeführt. Von je vier Tieren diente ein Paar als Kontrolltier, während bei dem anderen Paare eine 2proz. wässerige Lösung von nucleinsaurem Natrium, 1 bis 1,2 ccm, injiziert wurde. Dieses Mittel hatte sich in meiner ersten Arbeit[1]), als das Knochenmark reizend, vorzüglich bewährt.

Zur Kontrolle der Wirkung habe ich bei allen Tieren so wie in der ersten Arbeit das relative Bild der weißen Blutkörperchen aufgenommen. Alle dort gemachten Angaben konnten wiederum bei dieser neuen Versuchsreihe bestätigt werden.

---

[1]) *H. Nakao*, diese Zeitschr. **168**, 161, 1925.

Für die histologische Untersuchung hatte ich mich der liebenswürdigen Mithilfe von Herrn Prof. Dr. *Wegelin*, Direktor des pathologisch-anatomischen Instituts zu erfreuen. Derselbe hat alle von mir gemachten Präparate einer Durchsicht unterzogen, und die von mir gegebenen Beschreibungen sind unter seiner Mithilfe entstanden. Ich möchte auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank für seine Mithilfe sagen.

Die Markentnahme muß zur geeigneten Zeit gemacht werden, da das Markbild je nach der Zeit nach der Injektion des die Leucocytose hervorrufenden Mittels sehr verschieden ist.

Rubinstein hat sehr eingehende Versuche über die zeitlichen Veränderungen des Knochenmarks bei Leucocytose ausgeführt. Er hat bei normalen Kaninchen Deutero-Albumose injiziert und am nächsten Tage, am zweiten und am vierten Tage nach der Injektion das Mark untersucht. Am Tage nach der Injektion hat er eine Abnahme der Zahl der granulierten Elemente und am zweiten Tage die weitere Abnahme der Zahl der polymorphkernigen Leucocyten und Zunahme der Myelocyten und der Übergangsformen bemerkt. Diese Erscheinung wurde so erklärt, daß das die Leucocytose hervorrufende Mittel die polymorphkernigen granulierten Zellen schneller in das Blut befördert und die Vorstufen derselben zur Vermehrung bringt. Auf Grund von Untersuchungen von *Miyake* und *Könneke* ist die Zeit der stärksten feststellbaren Reaktion im Knochenmark 1 Stunde nach der Injektion des die Leucocytose erzeugenden Mittels. Aus diesem Grunde habe ich meine Versuchstiere 1 Stunde nach Injektion der Nucleinsäure getötet.

Die Entnahme des Marks erfolgte am proximalen Ende des Femurs. Die Fixation geschah in Formol *Müller*, die Einbettung in Paraffin. Die Dicke der Schnitte betrug 5 μ. Die Färbung wurde absolut säurefrei mit Hämotoxylin-Eosin und mit May-Giemsa ausgeführt. Die Erwärmungsmethoden erzielten sehr deutliche Bilder. Ich habe auch in jedem Falle die Leber, die Lymphdrüse und die Milz an Probestücken histologisch untersucht.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen finden sich in den nachfolgenden Tabellen I bis IV sowie in den typischen Abb. 1 bis 8, welche Beispiele über die wesentlichen Beobachtungen liefern sollen.

I. Bei normalen Tieren.

Fall 1. Kaninchen, ♀, 3 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn. L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
29. IV.	7,350	67,00	25,00	—	6,66	1,33	—
30. IV.	7,087	62,33	30,66	—	5,66	1,33	—
1. V.	getötet						

Man findet mäßig viele Fettzellen in gleichmäßiger Verteilung, zwischen ihnen überall meist schmale Stränge und blutbildende Zellen mit sehr vielen granulierten pseudoeosinophilen Leucocyten, etwas weniger zahlreiche Myelocyten und zahlreiche Megakaryocyten.

Fall 2. Kaninchen, ♀, 3 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
29. IV.	7,612	61,00	28,00	0,33	10,00	0,33	0,33
30. IV.	7,612	63,00	26,00	—	9,33	1,66	—
1. V.	getötet.						

Gleicher Befund wie bei Fall 1, nur sind die Gefäße etwas stärker erweitert.

Ia.

Fall 3. Kaninchen, ♀, 4 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
12. III.	7,612	57,33	39,66	0,33	1,33	1,33	—
16. III.	7,612	54,00	41,33	—	3,00	1,66	—
18. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1 ccm):						
	7,350	55,00	40,33	0,33	2,00	1,66	—
	1 Stunde nach der Injektion:						
	11,812	50,00	47,00	—	1,66	1,33	—
	sofort getötet.						

Gegenüber den normalen, nicht injizierten Tieren sind die granulierten blutbildenden Zellen etwas vermehrt, die Fettzellen weniger zahlreich als die Norm.

Fall 4. Kaninchen, ♀, 4 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
12. III.	6,300	61,33	32,66	—	5,66	0,33	—
16. III.	6,300	67,66	29,00	—	2,66	0,66	—
18. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1 ccm):						
	6,037	67,66	30,66	0,33	1,33	—	—
	1' Stunde nach der Injektion:						
	7,612	58,33	38,00	—	2,00	1,66	—
	sofort getötet.						

Gleicher Befund wie bei Fall 3.

II. Bei schilddrüsen- und thymuslosen Tieren.

Fall 5. Kaninchen, ♂, 4 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos	Baso.	Mon.	Myel.
9. III.	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
12. III.	8,137	50,33	48,00	—	1,66	—	—
14. III.	8,400	46,33	51,66	—	1,66	0,33	
14. III.	getötet.						

Keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den normalen, nicht injizierten Tieren, höchstens ist das Fettgewebe ganz wenig vermehrt. Blutbildende Zellen sind überall vorherrschend.

Fall 6. Kaninchen, ♀, 5 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
6. III.	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
16. III.	7,087	55,66	35,66	—	8,33	0,33	—
17. III.	7,350	58,33	38,00	—	3,66	—	—
17. III.	getötet.						

Der Befund ist der gleiche wie bei Fall 5.

IIa. Fall 7. Kaninchen, ♂, 5 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
3. II.	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
26. II.	8,400	58,33	40,43	—	0,66	0,33	—
19. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1 ccm):						
	8,662	61,00	38,33	—	0,33	0,33	—
	1 Stunde nach der Injektion:						
	8,925	57,66	39,33	—	1,33	1,66	—
	sofort getötet.						

Das Knochenmark ist hier stärker fetthaltig als bei normalen Tieren und bei den nicht injizierten schilddrüsen- und thymuslosen Tieren. An einigen Stellen sind die blutbildenden Zellen sogar sehr spärlich, an anderen Stellen sind sie annähernd so reichlich wie bei den normalen, nicht injizierten Tieren.

Fall 8. Kaninchen, ♀, 4 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
27. II.	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
12. III.	6,825	55,00	40,00	—	4,33	0,66	—
19. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1,2 ccm):						
	6,562	52,00	44,00	—	2,66	1,33	—
	1 Stunde nach der Injektion:						
	6,037	54,66	39,66	—	4,66	1,00	—
	sofort getötet.						

Fettzellen sind vermehrt, an einigen Stellen sind sehr wenige blutbildende Zellen, an anderen Stellen sind sie fast so zahlreich wie bei den normalen Tieren.

III. Bei milzlosen Tieren.

Fall 9. Kaninchen, ♀, 5 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
3. III.	Operation (Milz entfernt).						
12. III.	8,662	55,33	40,00	—	4,00	0,66	—
14. III.	8,400	52,66	43,33	—	3,33	0,66	—
14. III.	getötet.						

Keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den normalen Tieren. Nur sind die Fettzellen etwas zahlreich, dazwischen befinden sich aber noch sehr viele granulierte Zellen.

Fall 10. Kaninchen, ♂, 4 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
17. III.	Operation (Milz entfernt).						
19. III.	8,925	45,00	54,00	—	1,00	—	—
20. III.	8,400	47,33	51,33	—	1,33	—	—
20. III.	getötet.						

Gleicher Befund wie bei Fall 9, nur am Rande sind granulierte Zellen etwas reichlicher vorhanden.

IIIa.

Fall 11. Kaninchen, ♂, 5 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
4. III.	Operation (Milz entfernt).						
16. III.	7,612	47,66	49,00	0,66	2,66	—	—
19. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1 ccm):						—
	7,612	50,00	45,00	—	4,66	0,33	
	1 Stunde nach der Injektion:						
	12,600	39,66	58,33	—	1,33	0,66	—
	sofort getötet.						

Zahlreiche Fettzellen, dazwischen befinden sich aber sehr viele granulierte blutbildende Zellen, wesentlich reichlicher als bei den normalen, nicht injizierten Tieren.

Fall 12. Kaninchen, ♂, 4 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
3. III.	Operation (Milz entfernt).						
12. III.	8,662	56,00	37,00	0,33	3,66	—	—
13. III.	8,925	57,33	39,33	—	2,33	1,00	—
19. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1 ccm):						
	8,137	56,66	41,33	—	2,00	—	—
	1 Stunde nach der Injektion:						
	14,700	44,00	53,33	—	2,33	0,33	—
	sofort getötet.						

Spärliche Fettzellen, sehr viel blutbildendes Mark mit sehr zahlreichen granulierten Zellen, namentlich auch viele Myelocyten.

IV. Bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Tieren.

Fall 13. Kaninchen, ♀, 5 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
24. II.	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
6. III.	Operation (Milz entfernt).						
12. III.	8,400	57,33	41,66	—	0,66	0,33	—
13. III.	8,662	62,33	37,00	—	0,33	0,33	—
14. III.	getötet.						

Wenige Fettzellen, sehr viel blutbildendes Mark mit zahlreichen granulierten Zellen.

Fall 14. Kaninchen, ♀, 4 Monate alt (Kontrolltier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
24. II.	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
6. III.	Operation (Milz entfernt).						
13. III.	6,300	56,00	36,66	—	7,00	0,33	—
14. III.	6,562	60,66	31,00	—	7,33	1,00	—
14. III.	getötet.						

Ungefähr gleiches Bild wie bei den normalen, nicht injizierten Tieren, blutbildende Zellen sind eher etwas vermindert.

IVa.

Fall 15. Kaninchen, ♂, 5 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
16. II.	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
24. II.	Operation (Milz entfernt).						
16. III.	7,350	51,66	46,66	—	1,33	0,33	—
18. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1 ccm):						
	7,875	49,33	47,66	—	2,00	1,00	—
	1 Stunde nach der Injektion:						
	10,762	38,66	57,33	—	3,00	1,00	—
	sofort getötet.						

Sehr viel blutbildendes Mark mit sehr zahlreichen granulierten Zellen.

Fall 16. Kaninchen, ♂, 7 Monate alt (Versuchstier).

Datum	Zahl der weißen Blutzellen	Blutbild					
		Lymph.	Polyn.L.	Eos.	Baso.	Mon.	Myel.
10. XII. 1924	Operation (Schilddrüsen und Thymus entfernt).						
6. I.	Operation (Milz entfernt).						
26. II.	6,825	56,33	40,66	—	3,00	—	—
16. III.	6,300	54,66	43,00	—	2,33	—	—
17. III.	Zur Zeit der Injektion von Nucleinsäure (2proz. Lösung 1 ccm):						
	6,300	55,00	41,66	—	3,33	—	—
	1 Stunde nach der Injektion:						
	9,712	44,33	54,33	—	1,33	—	—
	sofort getötet.						

Reichliches Fettmark mit wenigen granulierten Zellen; an einigen Stellen ist das blutbildende Mark reichlicher.

*

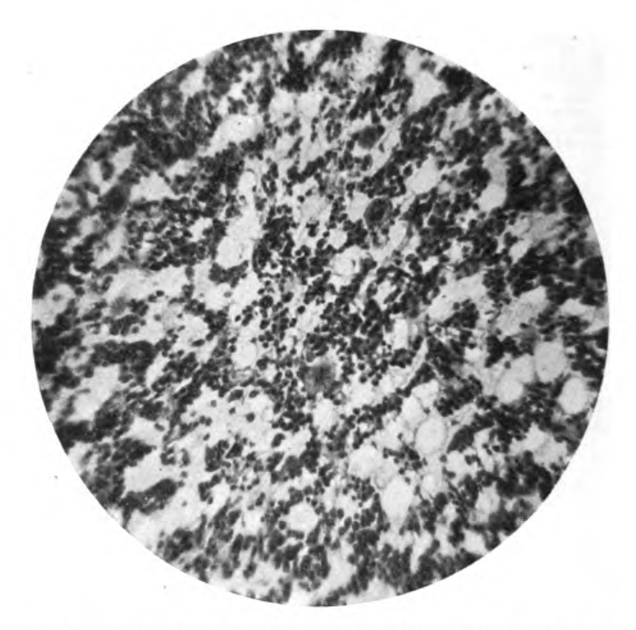


Abb. 1. Das Knochenmark des normalen nicht injizierten Kaninchens. (Fall 1.) Hämatoxilin-Eosin.

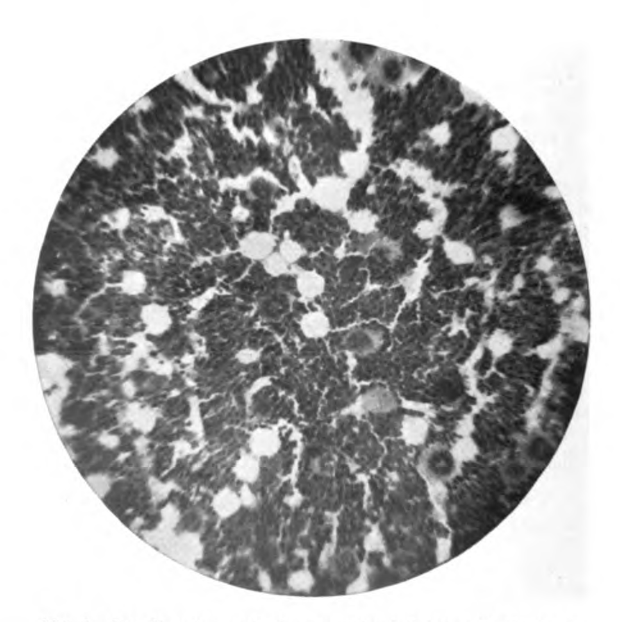


Abb. 2. Das Knochenmark des normalen injizierten Kaninchens. (Fall 3.) Hämatoxilin-Eosin.

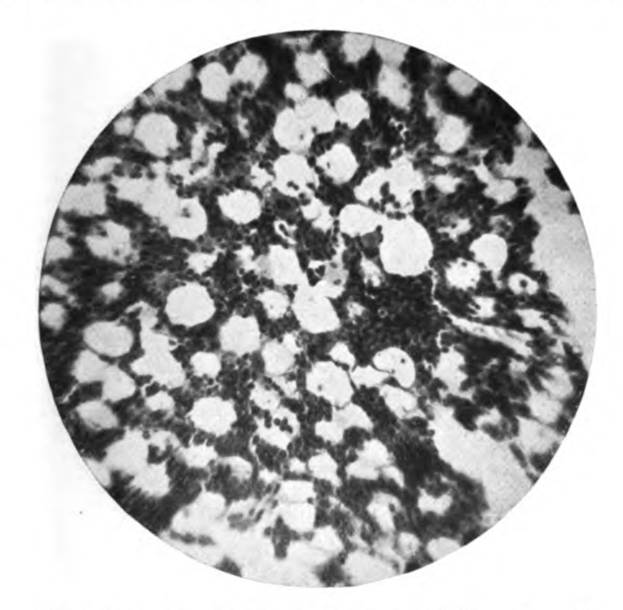


Abb. 3. Das Knochenmark des schilddrüsen- und thymuslosen nicht injizierten Kaninchens. (Fall 5.) Hämatoxilin-Eosin.

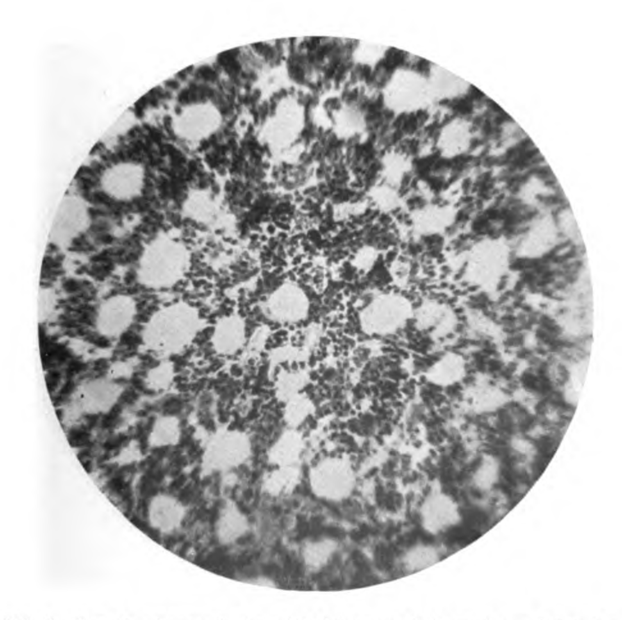


Abb. 4. Das Knochenmark des schilddrüsen- und thymuslosen injizierten Kaninchens. (Fall 7.) Hämatoxilin-Eosin.

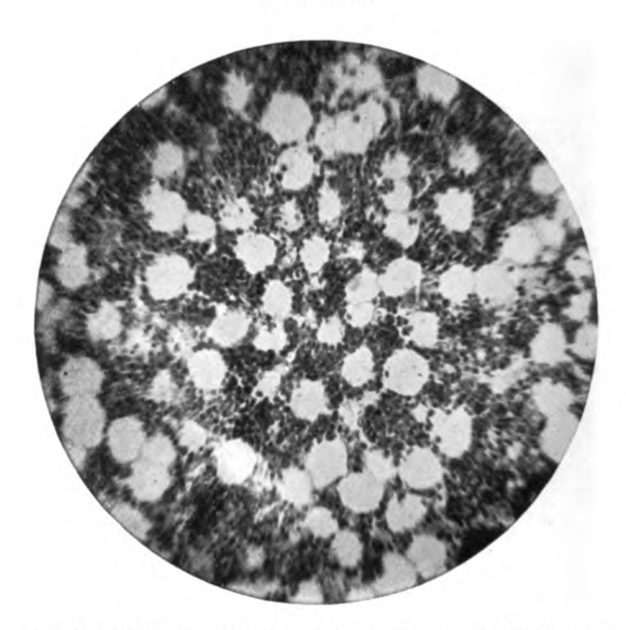


Abb. 5. Das Knochenmark des milzlosen nicht injizierten Kaninchens. (Fall 9.) Hämatoxilin-Eosin.

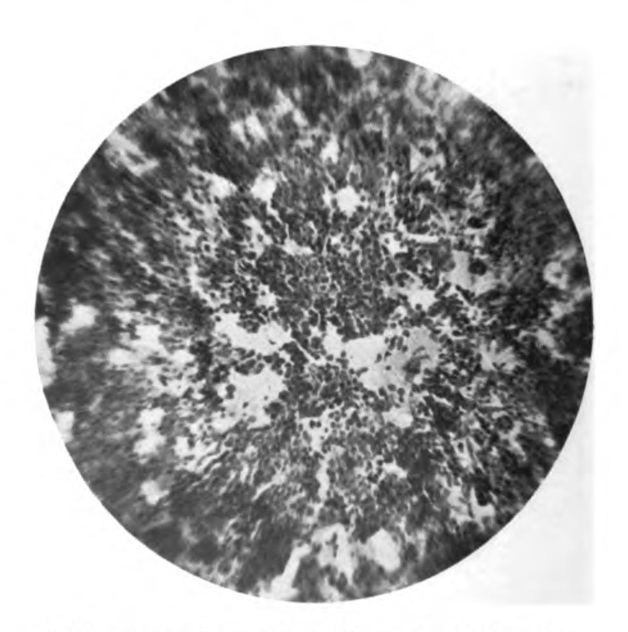


Abb. 6. Das Knochenmark des milzlosen injizierten Kaninchens. (Fall 11.) Hämatoxilin-Eosin.

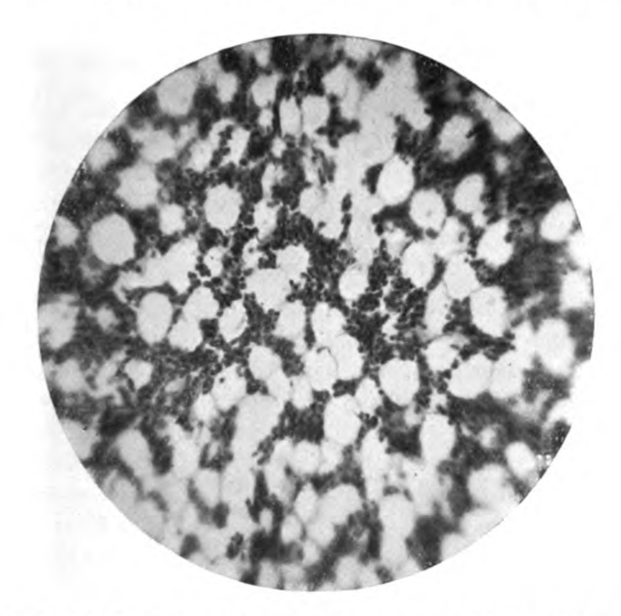


Abb. 7. Das Knochenmark des schilddrüsen-, thymus- und milzlosen nicht injizierten Kaninchens. (Fall 14.) Hämatoxilin-Eosin.

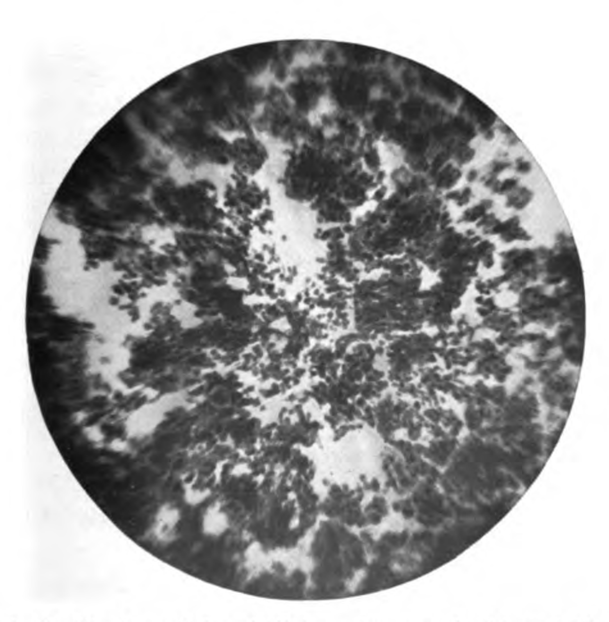


Abb. 8. Das Knochenmark des schilddrüsen-, thymus- und milzlosen injizierten Kaninchens. (Fall 15.) Hämatoxilin-Eosin.

Sowohl aus den Tabellen wie aus den Abbildungen ergeben sich die nachfolgenden Tatsachen:

Bei normalen Tieren ist ein großer Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den mit Nucleinsäure injizierten Tieren feststellbar. Bei den injizierten Tieren sind im Knochenmark die granulierten blutbildenden Zellen und die Leucocyten viel reichlicher als bei den Kontrolltieren. Das Knochenmarksbild der Reaktion auf Nucleinsäure ist ein charakteristisches und unverkennbares.

Der deutliche Unterschied der normalen, Kontroll- und injizierten Tiere verschwindet nach Wegnahme der Schilddrüse und der Thymus fast vollständig. Nur die Fettzellen sind bei diesem Zustande etwas vermehrt. Bei milzlosen Tieren ist der Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den injizierten Tieren ein noch größerer als bei den normalen Kaninchen. Die Vermehrung der granulierten blutbildenden Zellen und der Leucocyten nach der Injektion ist eine ganz außerordentlich große. Es ist dieser histologisch sehr klare Befund eine unzweideutige Bestätigung der von uns oft vertretenen Lehre, daß der bloße Wegfall der Milz Bedingungen schafft, die einer Förderung der Knochenmarksleistung entsprechen. Umgekehrt sind meine Befunde ein sehr schlagender Beweis dafür, daß das Vorhandensein der Milz eine relative Hemmung der Knochenmarksfunktion mit sich bringt.

Es entspricht wohl nun den Erwartungen, daß ich bei schilddrüsen-, thymus- und milzlosen Tieren im Gegensatz zu den Tieren, denen bloß Schilddrüse und Thymus fehlt, auch im histologischen Bilde eine Wiederkehr der Reaktion des Knochenmarks auf Nucleinsäureinjektion habe beobachten können. Im Knochenmark der dreifach operierten Tiere sind die granulierten blutbildenden Zellen und die Leucocyten reichlicher vorhanden als bei den Kontrolltieren. Das Mark ist im allgemeinen etwas atrophisch und die Fettzellen sind etwas vermehrt.

An den übrigen untersuchten Organen: Lymphdrüse, Leber und Milz, ließen sich keine wesentlichen Veränderungen bemerken.

Zusammengefaßt, sind die Ergebnisse der vorstehenden Arbeit die nachfolgenden:

1. Injektion von nucleinsaurem Natrium ruft bei normalen Kaninchen ein charakteristisches, histologisches Reaktionsbild des Knochenmarks hervor.

2. Dieses Reaktionsbild verschwindet nach Entfernung von Schilddrüse und Thymus, indem das Knochenmarksbild des Kontrolltieres und des injizierten Tieres keinen Unterschied mehr aufweist.

3. Bei milzlosen Tieren ist das Reaktionsbild des Knochenmarks am injizierten Tiere noch viel ausgeprägter als bei normalen Tieren.

4. Wird bei schilddrüsen- und thymuslosen Tieren noch die Milz exstirpiert, so kehrt das Reaktionsbild des Knochenmarks auf Nucleinsäureinjektion zurück.

5. Auf histologisch-experimentellem Wege ist ein neuer eindeutiger Beweis dafür erbracht, daß Schilddrüse und Thymus einen fördernden, die Milz einen hemmenden Einfluß auf das Knochenmark ausübt. Aus letzterem Grunde muß die Exstirpation der Milz einen fördernden Einfluß ausüben.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 89.

Fortgesetzte Untersuchungen über den Einfluß der Nierennerven auf die Zusammensetzung des Harns.

Von

W. Kichikawa.

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 29. September 1925.)

Es liegt eine ganze Reihe von Arbeiten vor, welche den Standpunkt vertreten, daß auch die Niere mit Nerven versorgt wird, deren Impulse den Absonderungsvorgang der Niere beeinflussen. Insbesondere kommen hier in Betracht Arbeiten aus dem Heidelberger pharmakologischen Institut, aus der inneren Klinik in Straßburg und Göttingen, sowie aus dem Berner physiologischen Institut. Trotz des beigebrachten Materials gibt es aber eine Anzahl von Autoren, welche sich dem in den genannten Arbeiten angenommenen Standpunkt nicht anschließen können. Dasjenige, worüber Differenzen herrschen, ist ein doppeltes. Einmal gibt es Autoren, welche die Niere überhaupt nicht als eine Drüse auffassen, wie das z. B. auf Grund sinnreicher Studien *v. Möllendorff* tut. Wenn man auf diesem Standpunkt steht, kann es natürlich keine echten sekretorischen Nerven für die Niere in dem Sinne geben, wie man bisher von sekretorischen Drüsen, beispielsweise bei der Speicheldrüse spricht. Andererseits gibt es Autoren, welche die Tatsache, die als beweisend für sekretorische Innervation beigebracht worden sind, nicht anerkennen. Eine ganz besondere Rolle in der Diskussion über die Frage der sekretorischen Innervation spielt die von *Lobenhöfer* beigebrachte Tatsache, daß die Implantation der Niere an einen anderen Ort die Leistungsfähigkeit der Niere für die Erhaltung des Lebens nicht ändert. Beginnen wir mit diesem Argument, so läßt sich leicht zeigen, daß es absolut nicht beweist, daß die Niere

mit sekretorischen Nerven nicht versorgt sei. Denn es ist bekannt, daß man alle vegetativen Organe, welche mit Sicherheit sekretorische Innervation haben, jeglichen Zusammenhangs mit dem zentralen Nervensystem berauben kann, und trotzdem die Drüsen in hinreichender Weise für das Leben funktionieren können. Diese für das Verständnis fundamentale Tatsache ging schon aus den berühmten Versuchen von *Goltz* und *Ewald* am rückenmarklosen Hunde hervor. Die Nerven, welche zu autonomen Organen führen, haben eine ganz andere Aufgabe als diejenigen, welche zu den quergestreiften willkürlichen Muskeln gehen. Die autonomen Organe tragen alle Bedingungen für ein Funktionieren in sich, vorausgesetzt, daß das chemische Milieu, welches sie umspielt, innerhalb der normalen Grenzen bleibt. Die Nerven dienen nur zu gewissen Regulationen. Da der Organismus über vielfache Mittel der Regulation verfügt, können die nervösen Regulationen weitgehend entbehrt werden. Es sind diese Gesichtspunkte sehr eingehend und in ihrer allgemeinen Bedeutung von *Asher* in seiner Harvey Lecture vom Jahre 1923 dargelegt worden.

Was nun die beobachteten Tatsachen anbelangt, so wird gelegentlich der Standpunkt vertreten, daß die beobachtbaren Unterschiede zwischen einer normalen und einer entnervten Niere sich hinreichend durch den Einfluß der allgemein anerkannten Gefäßinnervation erklären ließen. Einmal liegt hierin eine petitio principii vor, denn es ist durchaus nicht ausgemacht, daß chemische und physikalische Veränderungen einfach von einer veränderten Blutdurchströmung herrühren können. Diese Frage ist weder nach der einen, noch nach der anderen Richtung so weit entschieden, daß sie die Grundlage zu theoretischen Erwägungen abgeben könnte. Sodann kommt folgendes hinzu. Aus der allgemeinen Physiologie ist bekannt, daß der Tonusverlust der Gefäße, der nach Entnervung eines Organs auftritt, im Laufe der Zeit sich wieder vollständig ausgleicht. Der Ausgleich kann sogar in einer verhältnismäßig sehr kurzen Zeit eintreten. Es liegen nun eine große Reihe von Beobachtungen vor, aus denen hervorgeht, daß die Unterschiede, die man im Harn vor und nach der Entnervung feststellen kann, weit die Zeit überdauern, die erfahrungsgemäß zur Wiederherstellung des verloren gegangenen Tonus benötigt wird. Vor allem wird in manchen der Diskussionen übersehen, daß unter den Arbeiten des Berner physiologischen Instituts, ich nenne insbesondere diejenigen von *Asher* und *Pearce* und diejenige von *Hara*, der Einfluß des Kreislaufmoments dadurch experimentell vollständig ausgeschlossen wurde, daß gleichzeitig der Harn aus der Kontrollniere aufgefangen wurde, die den nämlichen Kreislaufschwankungen unterlag wie die Niere, welche dazu diente, den Einfluß der Nerven auf die Harnsekretion hervortreten zu lassen. So ist dies z. B. mehrfach anscheinend von *Cushny* in seinem

bekannten Buche über die Harnabsonderung bei der Kritik der Versuche, welche die sekretorische Innervation der Niere stützen sollten, übersehen worden. Wenn Schwierigkeiten in der Deutung der Tatsachen vorliegen, so sind diese sehr gut in einer jüngsten Arbeit von *Ellinger* und *Hirt*[1]), in welche ich nach Abschluß meiner Arbeit Einsicht erlangte, dargestellt worden.

Eine große Schwierigkeit bei der Untersuchung der Frage nach der etwaigen sekretorischen Innervation der Niere entsteht dadurch, daß Operationen und eine große Anzahl von methodischen Eingriffen, die man ausführt, derartige Veränderungen setzen können, daß die feineren Einflüsse der regulatorischen Nervenimpulse vollständig davon verdeckt werden können. Diese Beeinträchtigung oder Verhüllung der physiologischen Tatbestände tritt sogar in manchen Versuchen auf, wo es sich um viel gröbere Dinge der Harnsekretion handelt, als die Feststellung der Einflüsse der sekretorischen Nerven. Aus diesem Grunde ging die Tendenz einer Reihe von Arbeiten aus dem Berner physiologischen Institut dahin, an möglichst unversehrten Tieren die Untersuchung anzustellen. In diesem Bestreben hatte *Hara* sich der wohl einwandfreisten und zuverlässigsten Methode bedient, daß er eine doppelte Blasenfistel am Hunde anlegte, um so am im übrigen unversehrten Tiere gleichzeitig und unter sonst gleichen Bedingungen getrennt den Harn der normalen und der doppelt entnervten Niere aufzufangen. Seine Versuche führten zu dem Ergebnis, daß der Harn auf der entnervten Seite namentlich unter bestimmten experimentell herbeiführbaren Bedingungen charakteristische Unterschiede gegenüber dem Harn der normalen Niere aufwies. Da diese Unterschiede sich nicht durch das Fehlen der Gefäßinnervation erklären ließen, mußten dieselben auf dem Fortfall regulatorischer Permeabilitätsänderungen der Nierenzellen beruhen. Dabei bemerke ich nochmals, daß das Fehlen der Gefäßnerven durchaus nicht besagt, daß irgend etwas Funktionelles zurückgeblieben sei, was die Folge dieses Fehlens wäre. Wenn man am Kaninchen arbeitet, so ist man bisher nicht in der Lage gewesen, die sichere Methode anzuwenden, deren man sich am Hunde bedienen kann. Man wird daher am Kaninchen vorziehen, einen anderen Weg einzuschlagen, nämlich am gleichen und im übrigen unversehrten Tiere die Harnabsonderung vor und nach der Totalentnervung beider Nieren zu beobachten. Ich habe mich auf Anregung von Prof. *Asher* nochmals beider genannten Methoden bedient, um weitere Beiträge zur Funktion der Nierennerven zu liefern.

Die erste Abteilung meiner Versuche befaßte sich mit einer Wiederholung der von *Hara* angestellten Versuche, da es erwünscht schien,

---

[1]) *Ph. Ellinger* und *A. Hirt*, Archiv f. Path. und Pharm. **106**, 135, 1925.

die Beobachtungen von *Hara* zu erweitern. Es handelte sich darum, am Hunde eine doppelte Blasenfistel herzustellen.

Die Operationsmethode war die nachfolgende: 24 Stunden vor der Operation wurde dem Hunde jede Nahrung entzogen. 1 Stunde vor der Operation erhielt er 4 ccm Morphium. Die Vorbereitung des Hundes in bezug auf Sterilisierung usw. war die übliche. Während der Operation wurde mit Äther narkotisiert. Am Unterbauch wurde in der Mittellinie längs der Linea alba ein etwa 5 cm langer Schnitt durch die Haut, die Fascie, die Muskulatur und das Peritoneum gelegt. Hierauf wurde die Harnblase erfaßt und teilweise aus der Wunde herausgezogen. Der Harn in der Blase wurde mit desinfizierter Spritze herausgesaugt. Dann legte ich einen etwa 1½ cm langen Querschnitt am Fundus der Harnblase durch die Serosa, Muscularis und Mucosa und bildete ein Loch, welches später als Fistel dienen sollte. Hierauf wurde die Serosa ringsum mit Peritoneum fortlaufend mit Catgut angenäht. Um hier die subkutane Harninfiltration zu vermeiden, habe ich das Peritoneum mit dem Rectus und der Rectusscheibe zirkulär angenäht. Die Muscularis der Blase wird dann ebenso mit der Bauchwand zirkulär vernäht. Auf diese Weise ist eine einfache Blasenfistel gebildet. Hierauf wird die Bauchwunde durch drei Etagennähte verschlossen. Die äußere Wunde wird mit Jodtinktur bepinselt und mit einem Kollodiumanstrich versehen. Die soeben beschriebene Methode ist nicht die *Hara*sche, der eine doppelte Blasenfistel anlegte, vielmehr ist sie ähnlich der Methode, wie sie *Schwarz* beschrieben hat, der einzige Unterschied ist der, daß ich vollständig von einer Dauerkanüle absehe, welche stets einen mehr oder weniger großen Reiz ausübt.

Nach der Operation wird der Hund warm gehalten, er erhält erst am Tage nach der Operation Wasser und am übernächsten Tage Wasser und Milch. Von da an ist die Nahrung beliebig. Schon am zweiten Tage ist der Hund vollständig munter, er kann nach einigen Tagen zum Versuch verwendet werden. Besonders muß darauf geachtet werden, daß die Wunde sowie die Bauchwand nach Möglichkeit rein gehalten wird, um die ekzematösen Veränderungen möglichst zu vermeiden, welche durch den ständig herausfließenden Harn leicht hervorgerufen werden.

Einige Tage nach der Operation legt man besser ein *Verweil*-Katheter an, um eine anfängliche Verschließung durch Schwellung zu vermeiden. Auch später muß man immer bestrebt sein, keine Verengerung der Fistelmündung und keine Infektion der Blase eintreten zu lassen.

Die Versuchsreihe, die ich mit diesem Hunde angestellt habe, sollte dazu dienen, die Harnabsonderung unter den sofort zu beschreibenden Ernährungsbedingungen vor der Entnervung zu untersuchen, um daran die Untersuchung unter gleichen Bedingungen, aber nach vollständiger Entnervung, anzuschließen.

Auch in bezug auf die Versuchsbedingungen war ich bestrebt, dieselben möglichst physiologisch zu gestalten. Wie das geschieht, hat man aus den Arbeiten der *Pawlow*schen Schule erfahren. Ich habe mich dieser bewährten Methode bedient und habe den Hund in der einen Reihe mit Fleisch, in der anderen Reihe mit Brot und in der dritten Reihe mit Milch ernährt. Dies sind drei physiologische Variablen.

Es kommt darauf an, ob diese drei physiologischen Variablen in Betracht kommende Unterschiede erkennen lassen.

In den nachfolgenden Versuchsreihen wurde die Harnmenge, die Phosphorsäuremenge titrimetrisch, die Kreatininmenge kolorimetrisch nach *Folin* in dem *Autenrieth*schen Kolorimeter, die Sulfatmenge nach der Titrationsmethode von *Rosenheim* und *Drummond* bestimmt. Außerdem habe ich kolorimetrisch nach der Indikatorenmethode mit Hilfe des vom Schweizer Impf- und Seruminstitut hergestellten Ionoskops die Wasserstoffionenkonzentration des Harns ermittelt.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe bringe ich in den Tabellen I, II und III.

Tabelle I. Ein Hund mit Harnfistel untersucht (28. November 1924, Körpergewicht 7,075 kg). Hund A: a) bei Fleischnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
1. Dezember 1924, 11 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) alkalisch	20	0,1	0,02	7,8	87,5	17,5	151,9	30,38
b) „	70	0,202	0,071	7,7	67,5	23,63	166,6	58,31
c) „	65	0,18	0,059	7,7	65,0	21,25	171,5	55,73
23. Dezember 1924, 11 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) schwach alkalisch . .	25	0,08	0,02	7,6	67,5	16,875	98,0	24,5
b) „ sauer . . .	70	0,125	0,0425	7,3	57,5	20,13	156,8	54,88
c) „ „ . . .	120	0,17	0,102	7,2	47,5	28,5	117,6	70,56
14. Januar 1925, 9,30 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und ebenso untersucht.								
a) neutral	25	0,075	0,0188	7,4	62,5	15,63	156,8	39,2
b) schwach sauer 1014 .	100	0,195	0,0975	6,7	50,0	25,0	196,0	98,0
c) „ „ 1014 .	90	0,21	0,0945	6,7	42,5	19,125	202,86	91,28

Tabelle II. Hund A: b) bei Brotnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
10. Dezember 1924, 10 Uhr vormittags, 250 g Weißbrot gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) alkalisch	20	0,09	0,018	7,7	76,25	15,25	119,4	23,88
b) „	50	0,07	0,018	7,6	66,25	16,36	166,6	41,65
c) „	50	0,08	0,02	7,6	62,5	15,63	147,0	36,75
23. Januar 1925, 9,30 Uhr vormittags, 300 g Weißbrot gegeben und ebenso untersucht.								
a) neutral	17	0,1	0,017	7,6	57,5	9,775	137,2	23,314
b) „	40	0,17	0,034	7,5	52,5	10,5	166,6	33,32
c) „	55	0,175	0,048	7,4	50,0	13,6	156,8	43,12

Tabelle III.

Hund A: c) bei Milchnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
5. Dezember 1924, 11 Uhr vormittags, ½ Liter Milch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) schwach alkalisch . .	20	0,125	0,025	8,2	57,5	11,5	147,0	29,4
b) „ „ . .	65	0,1	0,033	8,3	40,0	13,0	137,2	44,25
c) „ „ . .	65	0,0825	0,0268	8,0	40,0	13,0	119,4	38,8
21. Januar 1925, 10,30 Uhr vormittags, ½ Liter Milch gegeben und ebenso untersucht.								
a) schwach alkalisch . .	25	0,1	0,0125	7,7	50,0	12,5	147,0	36,75
b) neutral 1017	100	0,095	0,0475	7,8	32,5	16,25	147,0	73,5
c) „ 1016	70	0,115	0,0403	7,6	50,0	17,5	127,4	44,59

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Harnmenge sowohl bei Fleisch- wie bei Milchnahrung mit der Zeit sich auffallend vermehrt. Bei Brotnahrung ist die Vermehrung nicht so stark. Die prozentische Menge von Phosphorsäure und von Sulfaten ist bei Fleischnahrung besonders gesteigert. Bei Brotnahrung ist sie weniger deutlich gesteigert, dagegen ist sie bei Milchnahrung etwas erniedrigt. Die Gesamtmenge von Phosphorsäure, die pro Stunde ausgeschieden wird, ist bei jeder Nahrung vermehrt. Am stärksten bei Fleischnahrung, dann bei Milchnahrung. Bei Brotnahrung ist die Vermehrung nur unbedeutend. Die prozentische Kreatininmenge ist bei jeder Nahrung vermindert. Hingegen ist die absolute Menge von Kreatinin, die pro Stunde ausgeschieden wird, bei jeder Nahrung vermehrt, am deutlichsten bei Fleischnahrung. Bei Brot- und Milchnahrung aber nicht so stark. Die Sulfatausscheidung pro Stunde ist bei jeder Nahrung vermehrt, am deutlichsten aber bei Fleischnahrung. Nachdem diese Vorversuche beendet waren, schritt ich zur Entnervung der linken Niere. Diese teilweise Entnervung hatte einen doppelten Versuchszweck: 1. wollte ich sehen, ob im Gesamtbilde der Harnausscheidung infolge der einseitigen Entnervung Änderungen eintreten, die nur auf die Entnervung zurückführbar wären; 2. wollte ich beobachten, ob die Operation zu Veränderungen entweder in der Niere oder in der Blase führt, die, weil pathologisch, für sich schon Abweichungen von der normalen Harnzusammensetzung bedingen.

Die Entnervung der linken Niere nahm ich am 28. Januar 1925 vor. Die linke zu operierende Niere wird etwas mehr nach oben gebracht, indem das Tier auf die rechte Körperseite gelegt wird. Die Morphiumnarkose wird während der Operation durch Äther vertieft. Der Hautschnitt

beginnt etwas unterhalb der letzten Rippe und wird nach unten entsprechend des M. sacrolumbalis etwa 6 cm geführt. Nachdem dieser Muskel bloß-gelegt ist, wird das obere Blatt seiner Scheide gespalten, dann wird der Finger in den Scheidenraum unter dem Muskel bis zu den Querfortsätzen geführt. Das zweite Blatt der Scheide wird durchschnitten. Die in einem Fettpolster gelagerte Niere kommt unmittelbar vor die Augen.

Die Niere wird schonend luxiert und vorsichtig aus der Wunde herausgehoben. Die makroskopisch deutlich sichtbaren Nervenfasern werden nahe am Hilus durchschnitten. Die Nierenarterie wird an einer Stelle sorgfältig isoliert und an dieser Stelle ringsum mit konzentriertem Phenol bepinselt, darauf folgt sofort Abtupfung mit Alkohol. Den Nervenplexus findet man am besten, wenn man die Nebennieren aufsucht, an die er eng angeheftet ist, bevor er seine Zweige zu den Nierengefäßen sendet. Indem ich die hintere Hälfte der Nebenniere zum Ausgangspunkt der Aufsuchung nahm, gelangte ich zu diesen Zweigen, die dann mit der Schere durchschnitten werden.

Nach der Entnervung wird die Niere langsam reponiert. Die Wunde wird durch eine Knopfnaht schichtweise in zwei Etagen geschlossen. Die ganze Entnervung geschieht extraperitoneal.

Die nachfolgende Untersuchung nach der Operation geschah in genau der gleichen Weise wie in der voraufgehenden Versuchsreihe. In den nachfolgenden Tabellen IV, V und VI teile ich die Ergebnisse dieser Versuchsreihe mit.

Tabelle IV.

Untersuchung nach Entnervung der linken Niere.

Hund A: a) bei Fleischnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
6. Februar 1925, 9.30 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) alkalisch 1007 . . .	70	0,035	0,0245	7,8	26,25	18,375	68,6	48,02
b) schwach 1011	160	0,13	0,104	7,4	23,75	19,0	112,4	89,92
c) „ alkalisch 1012	170	0,135	0,1148	7,3	22,5	19,12	147,0	124,9
18. Februar 1925, 11,15 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und ebenso untersucht.								
a) schwach alkalisch . .	40	0,075	0,03	8,1	42,5	17,0	98,0	39,2
b) „ „ 1008	96	0,195	0,094	7,8	37,5	18,0	137,2	65,75
c) „ „ 1007	100	0,152	0,076	7,6	35,0	17,5	119,4	59,7
10. März 1925, 9 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und ebenso untersucht.								
a) alkalisch	45	0,045	0,0203	8,2	37,5	16,88	78,4	35,28
b) „ 1010	100	0,12	0,06	8,0	37,5	18,75	117,6	58,8
c) „ 1010	110	0,098	0,0539	7,8	35,0	19,25	107,8	59,29

Tabelle V.

Hund A: b) bei Brotnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
4. Februar 1925, 10,30 Uhr vormittags, 250 g Weißbrot gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) schwach alkalisch . .	40	0,1	0,04	7,6	37,5	15,0	127,4	50,96
b) „ „ 1009	85	0,09	0,0388	7,4	37,5	15,94	147,0	62,47
c) „ sauer 1008 .	95	0,075	0,0356	7,2	35,0	16,625	98,0	46,55
15. Februar 1925, 9,30 Uhr vormittags, 250 g Weißbrot gegeben und ebenso untersucht.								
a) alkalisch	28	0,04	0,0112	8,2	48,75	13,65	98,0	27,44
b) schwach alkal. 1010 .	70	0,064	0,0224	7,8	42,5	14,875	119,4	41,79
c) „ „ 1009 .	85	0,025	0,0213	7,6	37,5	15,94	117,6	49,98
7. März 1925, 9,30 Uhr vormittags, 250 g Weißbrot gegeben und ebenso untersucht.								
a) alkalisch	20	0,02	0,004	7,8	32,5	7,5	107,8	21,56
b) „ 1009	65	0,03	0,0098	7,4	31,25	10,15	117,6	38,22
c) „ 1009	70	0,035	0,0123	7,2	30,0	10,5	119,4	41,78

Tabelle VI.

Hund A: c) bei Milchnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2P_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
9. Februar 1925, 9,45 Uhr vormittags, ½ Liter Milch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) alkalisch	55	0,08	0,044	7,6	32,5	17,875	107,8	59,29
b) „ 1009	120	0,0775	0,0465	7,4	30,0	18,0	98,0	60,0
c) schwach alkal. 1007 .	170	0,06	0,051	7,3	22,5	19,125	68,6	58,31
24. Februar 1925, 9,40 Uhr vormittags, ½ Liter Milch gegeben und ebenso untersucht.								
a) schwach alkalisch . .	40	0,065	0,026	8,0	37,5	15,0	88,2	35,28
b) „ „ . .	90	0,05	0,023	7,8	32,5	14,625	88,2	39,69
c) „ „ . .	90	0,04	0,018	7,7	30,0	13,5	68,6	30,87

Aus den obigen Protokollen ergeben sich die nachfolgenden Veränderungen, die nach der einseitigen Entnervung eingetreten sind. Die Steigerung der Harnmenge ist bei jeder Nahrung deutlicher ausgesprochen als vor der Entnervung, und besonders ist dies der Fall bei Fleisch- und Milchnahrung. Phosphorsäure, Kreatinin und Sulfate sind prozentual im allgemeinen erniedrigt, jedoch ist die Gesamtmenge ausgeschiedener Phosphorsäure und ausgeschiedener Sulfate pro Stunde gesteigert. Diese Steigerung ist aber nicht so hoch wie in der Zeit vor

der Entnervung. Die stündlich ausgeschiedene Kreatininmenge bei Fleischnahrung ist deutlich vermindert. Die Wasserstoffionenkonzentration ist deutlich kleiner als vor der Entnervung.

Nach Abschluß dieser Versuchsreihe wurde das Tier getötet und eine genaue pathologisch-anatomische Untersuchung der Nieren gemacht. Ich verdanke dieselbe und die genauen Angaben der Güte von Herrn Prof. *Wegelin*, Direktor des pathologisch-anatomischen Instituts.

Hund A. Sektionsbefund.

A) *Makroskopische Befunde.*

a) Linke Niere: 6 : 3,5 : 3, 42,7 g.

Kapselgefäß stark injiziert, Kapsel gut abziehbar. An der Oberfläche befinden sich zahlreiche, weißliche, graurote, narbige Einziehungen, die zum Teil konfluieren, an der übrigen dunkelroten Oberfläche sind einzelne, leicht prominente, unscharf begrenzte, weißliche Herde von 1 bis 2 mm Durchmesser. Schnittfläche dunkelrot, transparent, gut bluthaltig; an den eingezogenen Stellen ist die Rinde verschmälert, mehr graurot. Konsistenz etwas vermehrt, Brüchigkeit vermindert. Die Markpapillen sind mit gelblich-weißen, sandartigen Massen inkrustiert, mehr abgeplattet. Nierenbecken erweitert, Schleimhaut matt, injiziert, aber keine Geschwüre.

b) Rechte Niere: 5 : 3,3 : 2,5, 26 g.

Kapselgefäß normal, Kapsel gut abziehbar. Schnittfläche gut bluthaltig, die Markpapillen sind ebenso mit sandartigen Massen inkrustiert, aber diese Massen sind viel weniger als die der rechten Niere. Nierenbecken nicht erweitert. Rechter Ureter normal, der linke erweitert, aber die Dicke desselben nicht vermehrt. Herz: bedeutende Hypertrophie des linken Ventrikels; die Dicke desselben 2 cm.

B) *Mikroskopische Befunde.*

In der linken Niere findet sich ein breiter, ziemlich scharf begrenzter Schrumpfungsherd, der die ganze Dicke der Niere einnimmt und vor allem aus von Plasmazellen und Lymphocyten infiltriertem Bindegewebe besteht. Bindegewebszellen oft verfettet. Darin sind noch zahlreiche, zum Teil ziemlich gut bluthaltige, zum Teil aber geschrumpfte Glomeruli mit verdickter Kapsel sichtbar, die vereinzelte Lymphocyten und Plasmazellen enthalten. Im Kapselraum hier und da hyaline Schollen und desquamierte Epithelien. Ferner zeigt der Herd noch einige atrophische Harnkanälchen, zum Teil mit hyalinen Zylindern und verfetteten Epithelzellen. Gefäße stark injiziert, daneben in der linken Nierenrinde noch mehrere kleine, unscharf begrenzte Schrumpfungsherde mit stark vermehrten, von Lymphocyten, Plasmazellen und vereinzelten neutrophilen Leucocyten infiltriertem Bindegewebe. In beiden Nieren finden sich unscharf begrenzte Herde von sehr starker Infiltration mit neutrophilen Leukocyten, Lymphocyten und Plasmazellen, darin zum Teil nekrotische Harnkanälchen. Die Glomeruli sind in den beiden Nieren stark hyperämisch, zum Teil vergrößert und mit vereinzelten neutrophilen Leucocyten infiltriert. Im Kapselraum hier und da Eiweißschollen sowie desquamierte

Epithelzellen und Erythrocyten. Epithel des Harnkanälchens ausgedehnt trübe geschwollen. In den dickeren Schleifenschenkeln starke Fettablagerung. In dem Kanälchen oft Eiweiß und hier und da hyaline Schollen. Die Papillen der Markpyramiden sind stark ulzeriert und von nekrotischen Massen belegt. Darunter Granulationsgewebe mit zahlreichen neutrophilen Leucocyten, Lymphocyten und Plasmazellen. Auch in den Sammelröhren finden sich Leucocyten. Im Nierenbecken ist das Epithel meist noch erhalten. In der Mucosa Infiltration mit Leucocyten, Lymphocyten und Plasmazellen.

Diagnose: Chronische Pyelonephritis.

Es sind diese Sektionsbefunde von erheblichem Interesse, denn sie zeigen, daß nach einiger Zeit selbst bei sorgfältigster Behandlung in beiden Nieren pathologisch-anatomische Veränderungen eintreten können, welche die Mengenverhältnisse und die Zusammensetzung des Harns in Mitleidenschaft ziehen. Der Hund, über den ich in den vorstehenden Versuchsreihen berichtet habe, litt schließlich laut der pathologisch-anatomischen Diagnose beiderseits an einer chronischen Pyelonephritis. Es läßt sich daher nicht mit Sicherheit entscheiden, ob die von mir in dieser Versuchsreihe vorgefundenen Tatsachen auf der Entnervung oder auf der allmählich eingetretenen Pyelonephritis beruhen. Es schienen die Verhältnisse hier nahe zu liegen, wie bei den vorzüglichen *Pawlow*schen Fistelmethoden. Bekanntlich hat *Scheunert* zeigen können, daß selbst in den gelungensten Fällen histologische Veränderungen in den Drüsen sich nachweisen lassen. Natürlich ist damit nicht gesagt, daß die beobachteten funktionellen Erscheinungen von diesen morphologischen Veränderungen herrühren. Dagegen spricht schon das feine Spiel der Anpassung, welches selbst dann beobachtet werden kann, wenn die histologischen Veränderungen, wie sie *Scheunert* beschrieben, eingetreten sind. Aber immerhin mahnen diese Tatsachen zur Vorsicht.

Meine nächste Versuchsreihe war eine direkte Wiederholung der *Hara*schen Methodik. Auf Grund der im vorigen Abschnitt gemachten Erfahrungen wurde aber vorgezogen, die Versuchsdauer möglichst kurzfristig zu machen, um zu verhüten, daß im Verlauf einer länger dauernden Periode von der Blase aus ein aufsteigender krankhafter Prozeß sich entwickelte.

Die Vorbereitungen zur Operation waren die gleichen wie früher. In der Mittellinie der Bauchwand wird innerhalb der Linie alba ein etwa 10 cm langer Schnitt gelegt. Dieser Schnitt nimmt etwa 3 cm unterhalb des Nabels seinen Anfang und führt weiter unten entlang dem linken Rande des Penis, die Eingeweide werden ein wenig nach oben verschoben. Die Harnblase wird erfaßt und etwas aus der Wunde herausgehoben. Der Harn in der Blase wird mit desinfizierter Spritze entfernt, dann spaltete ich die ganze Strecke der vorderen Blasenwand in der Mittellinie vom Fundus bis Trigonum, um die beiden Uretermündungen direkt vor die

Augen zu bringen. Die hintere Wand spaltete ich nur an der oberen Hälfte, damit die wichtigen Gefäße und Nerven intakt blieben.

Die Urethra wird dann unter direkter Besichtigung der beiden Uretermündungen und des Ureters ungefähr 2 cm oberhalb der Prostata isoliert, doppelt ligiert und durchschnitten. Das Blasenende der Urethra wird mit einer Tabaksbeutelnaht sorgfältig geschlossen.

Die Schleimhaut der unteren Hälfte der hinteren Blasenwand wird gerade in der Mittellinie von der inneren Seite her nach beiden Seiten scharf getrennt. Die Muscularis wird mehr stumpf nach beiden Seiten abpräpariert.

Die beiden Hälften der Harnblase werden nun zu zwei nebeneinander liegenden, wurstförmigen Hohlschläuchen zusammengenäht. Hier ist nämlich die Operation mit großer Schwierigkeit verbunden; die Schleimhaut des unteren Poles der halbierten Blase muß mit Catgut ganz fein und wasserdicht fortlaufend verschlossen werden. Muscularis und Serosa habe ich mit Catgut fortlaufend zusammengenäht. Dann wird die vordere Bauchwand links und rechts in der Mamillarlinie durchbohrt. Dort bildete ich zuerst ein mit Catgut umsäumtes Loch, um die subkutane Harninfiltration zu vermeiden, indem das Peritoneum mit der oberflächlichen Muskelschicht zirkulär zugenäht wird. Hier wird das offene freie Ende des kleinen Bläschens als eine Fistelöffnung durchgeführt und fixiert. Die Blasenwand wird dicht unterhalb der Bauchwand noch einmal mit Catgut fortlaufend angenäht und befestigt. Auf diese Weise sind die beiden Blasenfisteln gebildet.

Nach Beendigung der Operation wird die Bauchhöhle durch exakte Etagennaht geschlossen. Das Peritoneum wird fortlaufend zusammen mit der untersten Muskelschicht mit Catgut genäht. Annähen der M. recti durch Seidenknopfnähte. Vereinigung der Haut mittels Seidenknopfnaht. Die auf diese Weise fest zugenähte äußere Wunde wird noch einmal mit Jodtinktur desinfiziert und mit Kollodium bestrichen, um dieselbe vor der nachträglichen Infektion zu schützen. Nach meiner Meinung ist es vorteilhafter, zugleich den Penis wegzunehmen, um die bessere Wundheilung zu bekommen.

Während der Operationsdauer bestrahlten drei Glühlampen das Abdomen des operierten Tieres und schützten vor der Abkühlung.

Das Resultat der Operation war nach allen Seiten ein vorzügliches. Das Tier erholte sich rasch und war sonst völlig normal in Nahrungsaufnahme und Ernährungszustand. Nach einigen Tagen konnte ich den maßgebenden Versuch anfangen.

Vor dem Versuch wurde stets ein Hungertag eingeschaltet. Bei den Versuchen wurde das Tier in der Schwebe gehalten, es ist dabei am geeignetsten, das Tier in stehende Stellung zu bringen. Um den Harn der beiden Nieren getrennt auffangen zu können, bediente ich mich zweier Gummitrichter, die mit einem Gummiband um den Leib umgewickelt worden sind. Auf diese Weise konnte ich den Harn tadellos auffangen. An diesem Hunde wurden im sonst gesunden Zustande dieselben Funktionsprüfungen der beiden Nieren durchgeführt, wie bei dem früheren Tiere, nämlich Versuche mit Fleischnahrung, Versuche mit Brotnahrung und Versuche mit Milchnahrung.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe teile ich in den Tabellen VII, VIII und IX mit.

Tabelle VII.

Funktionsprüfung der beiden Nieren im gesunden Zustande.

Hund B. a) bei Fleischnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g·Proz.	P_2O_5 g·Stdn.	p_H	Kreatinin mg·Proz.	Kreatinin mg mg·Stdn.	Sulfat mg·Proz.	Sulfat mg·Stdn.
25. Februar 1925, 9,30 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) rechts sauer	10	0,08	0,008	6,2	72,5	7,25	98,0	9,8
links sauer	12	0,0775	0,0093	6,2	72,5	8,70	88,2	10,58
b) rechts sauer	30	0,27	0,04	6,4	62,5	9,38	166,6	24,99
links sauer	35	0,265	0,043	6,4	62,5	10,93	156,6	39,15
c) rechts sauer	50	0,32	0,08	6,6	42,5	10,62	156,6	39,15
links sauer	55	0,315	0,087	6,8	40,0	11,0	147,0	40,43
9. März 1925, 9,15 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts alkalisch . . .	9	0,12	0,0108	7,6	62,5	5,625	119,4	10,75
links alkalisch . . .	11	0,12	0,0132	7,6	62,5	6,875	119,4	13,13
b) rechts schwach alkal.	30	0,32	0,048	7,4	57,5	8,625	215,6	32,34
links schwach alkal. .	35	0,28	0,049	7,5	55,0	9,125	196,0	34,30
c) rechts schwach alkal.	35	0,34	0,0595	7,2	55,0	9,125	186,2	32,55
links schwach alkal. .	31	0,325	0,0502	7,4	57,5	8,912	196,0	30,38
23. März 1925, 10,30 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts sauer	8	0,18	0,0144	6,6	92,5	7,40	137,2	10,98
links sauer	7	0,18	0,0136	6,7	92,5	6,475	137,2	9,60
b) rechts sauer	30	0,19	0,057	6,5	62,5	9,375	156,8	23,25
links sauer	28	0,20	0,056	6,6	65,0	9,1	166,6	23,32
c) rechts sauer	40	0,233	0,093	6,5	42,5	8,50	166,6	33,32
links sauer	35	0,25	0,0875	6,6	47,5	8,31	176,4	30,87

Tabelle VIII.

Hund B: b) bei Brotnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g·Proz.	P_2O_5 g·Stdn.	p_H	Kreatinin mg·Proz.	Kreatinin mg mg·Stdn.	Sulfat mg·Proz.	Sulfat mg·Stdn.
19. Februar 1925, 11,15 Uhr vormittags, 300 g Weißbrot gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) rechts sauer	7	0,2	0,014	6,8	92,5	6,47	147,0	10,3
links sauer	7	0,2	0,014	6,7	90,0	6,3	147,0	10,3
b) rechts sauer	20	0,23	0,023	6,5	82,5	8,25	176,4	17,64
links sauer	18	0,233	0,021	6,3	82,5	7,43	186,2	16,76
c) rechts sauer	15	0,28	0,021	6,2	60,0	4,5	166,6	12,49
links sauer	18	0,27	0,024	6,2	60,0	5,4	156,8	14,11

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
6. März 1925, 11,20 Uhr vormittags, 300 g Brot gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts schwach alkal.	12	0,179	0,021	7,5	55,0	6,6	176,4	21,17
links schwach alkal. .	10	0,184	0,0184	7,5	62,5	6,25	186,2	18,62
b) rechts schwach sauer	30	0,16	0,024	7,2	45,0	6,75	205,8	30,87
links schwach sauer .	30	0,155	0,023	7,3	50,0	7,50	205,8	30,87
c) rechts schwach sauer	28	0,179	0,0251	6,8	30,0	4,2	176,4	24,7
links schwach sauer .	26	0,179	0,023	6,8	47,5	6,18	176,4	22,93
20. März 1925, 9,30 Uhr vormittags, 300 g Brot gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts alkalisch . . .	13	0,08	0,01	7,8	50,0	6,5	98,0	12,74
links alkalisch . . .	11	0,08	0,0088	7,8	50,0	5,5	98,0	10,78
b) rechts alkalisch . . .	28	0,12	0,0168	7,6	45,0	6,1	107,8	15,09
links alkalisch . . .	32	0,11	0,0176	7,6	42,5	6,8	107,8	17,28
c) rechts alkalisch . . .	42	0,1	0,021	7,6	30,0	6,3	117,6	24,67
links alkalisch . . .	34	0,11	0,0187	7,6	32,5	5,53	127,4	20,66

Tabelle IX.

Hund B: c) bei Milchnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 mg-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
11. März 1925, 9,30 Uhr vormittags, 1 Liter Milch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) rechts alkalisch . .	17	0,125	0,0213	7,6	52,5	8,93	78,4	13,33
links alkalisch . . .	15	0,125	0,0188	7,6	52,5	7,88	78,4	11,78
b) rechts alkalisch . .	40	0,115	0,023	7,4	42,5	8,5	98,0	19,6
links alkalisch . . .	46	0,1	0,023	7,4	42,5	9,78	88,2	20,29
c) rechts alkalisch . .	43	0,1	0,0265	7,2	37,5	7,56	107,8	23,23
links alkalisch . . .	40	0,1	0,02	7,3	40,0	8,0	107,8	21,56
16. März 1925, 9 Uhr vormittags, 1 Liter Milch gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts alkalisch . .	12	0,12	0,0144	7,4	57,0	6,84	68,6	8,23
links alkalisch . . .	15	0,12	0,018	7,4	50,0	7,5	68,6	10,39
b) rechts schwach sauer	35	0,105	0,0184	7,2	45,0	7,87	88,2	15,44
links schwach sauer	30	0,105	0,0158	7,2	47,5	7,13	98,0	14,7
c) rechts sauer	45	0,08	0,018	6,8	37,5	8,44	58,8	13,26
links sauer	40	0,095	0,019	7,0	40,0	8,00	68,6	13,72
18. März 1925, 9,30 Uhr vormittags, 1 Liter Milch gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts schwach sauer	12	0,145	0,0174	6,8	67,5	8,1	98,0	11,76
links schwach sauer	12	0,145	0,0174	6,8	67,5	8,1	98,0	11,76
b) rechts sauer	45	0,11	0,0248	6,6	42,5	9,56	88,2	19,84
links sauer	40	0,12	0,024	6,6	45,0	9,0	88,2	17,64
c) rechts sauer	37	0,09	0,0167	6,4	37,5	6,93	88,2	16,32
links sauer	45	0,08	0,018	6,3	35,0	7,87	78,4	17,64

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß die von jeder einzelnen Niere abgesonderte Harnmenge wie die ausgeschiedenen Harnbestandteile fast die gleichen waren. Diese Feststellung ist erforderlich, ehe man zur Entnervung schreitet, da ja aus individuellen Gründen sehr wohl von vornherein ein Unterschied der beiden Nieren bestehen könnte. Hierauf erfolgte am 26. März 1925 in der früher beschriebenen Weise die Entnervung der linken Niere. Die Wundheilung verlief glatt. Nach einer Woche konnte ich mit den Versuchen beginnen.

In den Tabellen X, XI und XII teile ich die Ergebnisse der Versuche mit, welche nach der linksseitigen Nierenentnervung gewonnen wurden.

Tabelle X. Funktionsprüfung der beiden Nieren *nach* der einseitigen Nierenentnervung. Hund B: a) bei Fleischnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 mg-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
3. April 1925, 10,25 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) rechts sauer	10	0,105	0,0105	6,5	62,5	6,25	107,8	10,78
links sauer	14	0,085	0,0119	6,4	40,0	5,60	88,2	12,41
b) rechts sauer 1012 .	29	0,18	0,0261	6,3	57,5	8,79	137,2	19,39
links sauer	44	0,13	0,0286	6,2	32,5	7,10	117,6	25,87
c) rechts sauer 1011 . .	40	0,21	0,042	6,2	47,5	9,5	137,2	27,44
links sauer	60	0,17	0,051	6,0	27,5	8,25	107,8	32,34
6. Aprill 1925, 9,15 Uhr vormittags, 1 Pfund Pferdefleisch gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts sauer	11	0,125	0,0137	6,8	72,5	7,975	137,2	15,09
links sauer	16	0,1	0,016	6,8	50,0	8,0	117,6	17,83
b) rechts sauer 1017 .	28	0,21	0,0294	6,6	67,5	9,45	166,6	23,32
links sauer 1015 . .	40	0,155	0,031	6,4	42,5	8,5	127,4	25,5
c) rechts sauer 1017 .	36	0,275	0,0495	6,5	62,3	11,25	176,4	31,75
links sauer	54	0,21	0,0567	6,2	35,0	9,45	137,2	37,07

Tabelle XI. Hund B: b) bei Brotnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
4. April 1925, 9,20 Uhr vormittags, 250 g Brot gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) rechts sauer	8	0,145	0,0116	7,2	82,5	6,6	137,2	10,98
links sauer	13	0,1	0,013	7,2	47,5	6,175	98,0	12,74
b) rechts sauer	24	0,165	0,0188	6,8	55,0	6,6	147,0	17,64
links sauer	36	0,13	0,0234	6,6	35,0	6,3	117,6	21,17
c) rechts sauer	24	0,18	0,0216	6,7	50,0	6,0	147,0	17,64
links sauer	40	0,145	0,029	6,4	30,0	6,0	107,8	21,46
8. April 1925, 9 Uhr vorm., 250 g Weißbrot gegeben und ebenso untersucht.								
a) rechts sauer	7	0,13	0,009	6,5	72,5	5,075	147,0	10,29
links sauer	12	0,1	0,012	6,4	47,5	5,7	107,8	12,94
b) rechts sauer	20	0,17	0,0204	6,3	57,5	5,75	156,8	15,68
links sauer	30	0,145	0,0218	6,2	37,5	5,63	117,6	17,64
c) rechts sauer	22	0,185	0,0204	6,3	57,5	6,225	166,6	18,32
links sauer	35	0,15	0,0263	6,2	35,0	6,125	117,6	20,58

Tabelle XII.

Hund B: c) bei Milchnahrung.

Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	P_2O_5 g-Stdn.	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Kreatinin mg mg-Stdn.	Sulfat mg-Proz.	Sulfat mg-Stdn.
1. April 1925, 9,45 Uhr vormittags, ½ Liter Milch gegeben und a) nach 1, b) nach 3, c) nach 5 Stunden untersucht.								
a) rechts sauer	10	0,105	0,0105	6,7	57,5	5,75	107,8	10,78
links sauer	14	0,105	0,0145	6,7	45,0	6,30	98,0	13,73
b) rechts sauer	33	0,09	0,0149	6,5	42,5	7,01	98,0	16,17
links sauer	58	0,07	0,0203	6,4	22,5	6,525	78,4	22,73
c) rechts sauer	30	0,09	0,0135	6,3	40,0	6,0	88,2	13,23
links sauer	56	0,07	0,0196	6,2	22,5	6,3	78,4	21,95

Die Harnmenge war auf der operierten Seite größer, sie war am größten nach Einnahme von Fleischnahrung, geringer bei Milchnahrung und am geringsten bei Brotnahrung. Die prozentische Ausscheidung von Phosphorsäure, von Kreatinin und von Phosphaten war auf der operierten Seite niedriger, hingegen war die Gesamtausscheidung an Phosphorsäure und Sulfaten in Milligrammen pro Stunde vermehrt, und zwar besonders nach Fleischnahrung. Anders verhielt es sich mit dem Kreatinin. Die Gesamtausscheidung von Kreatinin in Milligrammen pro Stunde war auf der operierten Seite stets geringer als auf der gesunden Seite. Die Wasserstoffionenkonzentration war gleichfalls auf der operierten Seite geringer als auf der gesunden Seite.

Im wesentlichen stimmen meine Ergebnisse, soweit sie dieselben Stoffe betreffen, genau mit denjenigen überein, wie sie *Hara* gefunden hatte. Deshalb gelten auch die gleichen Erwägungen, welche in *Haras* Arbeit angestellt worden sind, und die zu der Annahme führten, daß die Tatsachen sich am einfachsten erklären, wenn man den Nerven der Nieren einen regelnden Einfluß auf die Permeabilität zuschrieb, auch für meine Versuche. Kreatinin wurde in *Haras* Versuchen nicht bestimmt. Hier zeigt sich nun in interessanter Weise im Gegensatz zu Phosphaten und Sulfaten, daß auf der entnervten Seite die Kreatininmenge nicht bloß prozentisch, sondern auch absolut kleiner ist als auf der anderen. Daraus geht hervor, daß die entnervte Niere an Konzentrationsvermögen verloren hat. Es ist nicht abzusehen, wie die Verminderung des Kreatiningehalts auf der entnervten Seite nur durch Gefäßveränderungen erklärt werden sollte, gleichgültig, auf welchen Standpunkt der mechanischen Theorie man sich stellen wollte. Es lassen sich natürlich Hypothesen ersinnen, um alles nach einer der herrschenden Theorien zu erklären, beispielsweise könnte man einmal statuieren, daß das Kreatinin zu den Stoffen mit Schwellenwert gehöre. Sodann könnte man weiter behaupten, daß wegen der rascheren Durchströmung im Gebiete der resorbierenden Kanälchen mehr Kreatinin

resorbiert würde, drittens müßte man annehmen, daß die Vergrößerung der Resorption diejenige der vermehrten Filtration überträfe. Derartige komplizierte Annahmen haben wenig Befriedigendes an sich. Eine weitere Ergänzung zu den Erfahrungen von *Hara* liegt darin, daß ich die Phosphate und die Sulfate bestimmt habe, während *Hara* die Chloride bestimmte. Auf der entnervten Seite verhielt sich die Ausscheidung der Phosphorsäure und der Sulfate genau so, verglichen mit der normalen Seite, wie in *Haras* Versuchen die Ausscheidung der Chloride. Nun sind nach der *Cushny*schen Theorie die Phosphate und die Sulfate sogenannte Nichtschwellensubstanzstoffe. Man würde daher einen Unterschied im Verhalten der Phosphate und Sulfate einerseits und der Chloride andererseits erwarten. Die Beobachtungstatsachen entsprechen aber nicht diesen Erwartungen.

Während einer Beobachtungsdauer von 40 Tagen blieb der Hund vollständig gesund, danach entwickelten sich aber krankhafte Symptome, die ganz plötzlich auftraten, und es fanden sich, was vorher nicht der Fall war, Eiweiß und Leucocyten im Harn in geringer Menge. Nach achttägiger Krankheit starb das Tier, der Sektionsbefund war der nachfolgende.

Sektionsbefund.

A. *Makroskopische Befunde.*

a) Linke Niere: 7 : 4 : 3, 36,5 g. Kapselgefäß leicht injiziert, Kapsel abziehbar. An der Oberfläche sind einige mehr scharf begrenzte grauweißliche Erhabenheiten und zahlreiche kleine punktförmige, rötliche Hämorrhagien sichtbar. Schnittfläche: graurötlich, wenig bluthaltig, Blutung in der Rinde. Konsistenz: etwas vermehrt. Markpapille mehr glatt, Nierenbecken nicht besonders erweitert. Schleimhaut leicht injiziert. Linker Ureter: leicht erweitert.

b) Rechte Niere: 6 : 3 : 2,5, 28,7 g. Kapsel leicht abziehbar, punktförmige kleine rötliche Erhabenheiten sichtbar. Schnittfläche: graurötlich, transparent, wenig bluthaltig. Markpapille, Nierenbecken nichts Besonderes. Schleimhaut nicht injiziert, glatt. Linker Ureter normal.

c) Linkes Bläschen: Schleimhaut leicht injiziert, glatt, keine Erosion und Geschwüre. Rechtes Bläschen: ebenso.

d) Herz: als ganzes vergrößert; an der Oberfläche einige punktförmige, dunkelrötliche Hämorrhagien. Linke Ventrikel: deutlich hypertrophiert, Dicke 1,8 cm.

e) Darm: am unteren Abschnitt des Dünndarms befinden sich ziemlich ausgedehnte, dunkelrötliche Blutungsherde. Schleimhaut: geschwürig.

f) Milz: etwas vergrößert.

B. *Mikroskopische Befunde.*

In beiden Nieren starke, herdförmige Infiltration des interstitiellen Gewebes mit Lymphocyten, ferner mit wenigen Plasmazellen und vereinzelten eosinophylen Leucocyten. Stellenweise in kleinen Herden auch viele Epitheloidzellen mit hellem Protoplasma. Namentlich in der rechten Niere ziemlich starke Verfettung in den Schleifen und Schaltstücken, vereinzelt auch in den Hauptstücken und Glomeruli. In dem Kapselraum

einige Glomeruli mit Fibrin. Da und dort Blutungen. In den Kanälchen oft Blut und hyaline Zylinder. Im Dickdarm ausgedehnte Blutungen in der Submucosa, ferner auch in der noch gut erhaltenen Mucosa. In der Muscularis vereinzelte eosinophile Leucocyten. Interstitium der Mucosa stark verbreitert und mit Lymphocyten infiltriert.

Diagnose: Chronische interstitielle Nephritis. Chronische Colitis.

Offenbar war in jenen Tagen, wo die ersten krankhaften Erscheinungen beobachtet werden konnten, der Beginn des pathologischen Zustandes zu setzen, den die spätere Untersuchung genauer erkennen ließ. Ich bin daher der Meinung, daß die von mir geschilderten Unterschiede zwischen der normalen und der entnervten Niere im wesentlichen darauf beruhen, daß die eine Niere der Regulierung durch die Nerven entbehrte, wobei ich unter Regulierung nicht bloß die Beeinflussung der Gefäße, sondern auch die Beeinflussung der Permeabilität der Nierenzellen verstehe.

Die letzte Abteilung meiner Versuche beschäftigt sich mit dem Vergleich der Harnabsonderung an *Kaninchen* vor und nach der Entnervung. Auch in dieser Versuchsreihe habe ich die Eingriffe möglichst physiologisch zu gestalten versucht, indem ich einmal die Kaninchen mit Brot und Milch ernährte und das andere Mal ihnen Pflanzennahrung gab. Auf das quantitative Auffangen des Harns wurde große Sorgfalt verwendet. Die Tiere kamen in besondere Käfige, wie sie im Berner physiologischen Institut für diese Zwecke üblich sind. Die Nahrungsmittelbehälter wurden so angebracht, daß eine Verunreinigung des Käfigs durch die Nahrungsmittel nicht möglich war. Durch eingelegte Böden wurden Harn und Kot voneinander getrennt. Der Harn floß sofort nach der Entleerung in untergelegte Gefäße ab, und zwar durch einen Trichter, der dazu noch ein Papierfilter enthielt. Als Pflanzennahrung gab ich Rüben, Hafer und Weizenkleie. Nach der beidseitigen Nierenentnervung wurde der Harn ebenso untersucht und mit demjenigen des normalen Zustandes verglichen. Die Entnervung der Nieren wird in zwei Sitzungen ausgeführt, zuerst die eine, dann die andere Seite.

Vorbereitung und Methodik der Operation.

Das Futter wurde am Tage vor der Operation mäßig reduziert; die Operation fand im nüchternen Zustande statt. 1 Stunde vor der Operation erhielt das Tier subkutan 2 ccm 2proz. Morphiums. Auf diese Injektion verfiel es in einen Schlafzustand, in welchem es leicht aufzubinden ist. Dann wird es im Vorbereitungszimmer auf dem Tische leicht auf die rechte Seite gebunden.

Die Desinfektion des Operationsfeldes erfolgte mittels Seife, Jodtinktur und 70proz. Alkohols, nachdem vorher ausgedehnt der linke Seitenbauch rasiert worden ist. Darauf wird das Tier auf dem Operationstisch mit

sterilisierten Tüchern zugedeckt, die entsprechend dem Operationsfeld ein umsäumtes Loch haben. Schließlich wird gerade vor dem Schnitt das auf diese Weise von der Umgebung begrenzte Feld noch einmal mit 10proz. Jodtinktur bestrichen.

Operationstechnik. Das Tier wird auf die rechte Seite gebunden; die linke hypochondrische und mesogastrische Gegend wird in der beschriebenen Weise zur Operation vorbereitet und mit sterilen Tüchern gegen die Umgebung abgegrenzt. Den Hautschnitt begann ich etwa 1 cm oberhalb der letzten Rippe und führte ihn mehr parallel der Wirbelsäule gegen das Kreuzbein ungefähr 6 cm lang. Die desinfizierte Haut wird an den Schnitträndern an das sterile Tuch geklemmt, so daß das Operationsbett von der Hautoberfläche vollkommen geschützt ist. Die Muskeln werden an der Grenze zwischen den dicken longitudinalen Rückenmuskeln und den dünnen Bauchmuskeln durchschnitten. Dieser Schnitt muß möglichst nahe an den unteren Rippenbogen heranreichen und darf auf keinen Fall lateralwärts von der angegebenen Muskelgrenze geführt werden. Dann wird die Niere mit Hilfe der Finger ganz schonend von der Umgebung losgelöst. Nun muß die Niere in mehr oder weniger fixierter Stellung vorsichtig aus der Wunde herausgehoben werden. Ein leichter Druck auf den Bauch oder von der Seite her genügt häufig, um die Niere luxieren zu lassen. Man hat unmittelbar den Hilus der in einem Fettpolster gelagerten Niere vor sich. Hierauf werden die Gefäße und Ureter ganz fein von der Umgebung abpräpariert.

Was die Entnervung der Niere betrifft, so wurde dieselbe nach der Methode von *Bayliss* ausgeführt, bei welcher der freigelegte Hilus nach sorgfältiger Durchreißung der Hauptnervenstämme mit konzentriertem Phenol bepinselt und dann sofort mit Alkohol betupft wird. Wichtig ist, daß man die geringste Verletzung der dünnen Gefäßwand vermeidet. Man soll auch stets bestrebt sein, den Muskelschnitt so zu führen, daß die Niere ohne starkes Drücken herausgehoben werden kann. Nach der Entnervung wird die luxierte Niere langsam reponiert. Die Wunde wird durch eine Knopfnaht in zwei Etagen verschlossen. Die auf diese Weise zugenähte äußere Wunde wird mit Jodtinktur bepinselt und mit Kollodium bestrichen.

Die Operation kann ohne jeden Blutverlust und Verletzung des Peritoneums ausgeführt werden. Die ersten paar Tage nach der Operation muß die Wunde sorgfältig überwacht und rein gehalten werden. Die Wundheilung erfolgt per primam nach 4 bis 6 Tagen.

Die Entnervung der rechten Niere wird ganz in derselben Weise wie bei der linken Niere angeführt.

Die Versuche wurden an zwei Kaninchen angestellt, welche beide vor und nach der Operation sich dauernd in einem guten Zustande befanden. Auch nach Abschluß der Operation war der Harn vollständig normal, und die Tiere waren in einem so guten Zustande, daß sie anderen Zwecken als den wissenschaftlichen Untersuchungen im Laboratorium überlassen werden konnten. In den nachfolgenden Tabellen XIII bis XIX teile ich die Ergebnisse meiner sämtlichen Versuche vor und nach der doppelseitigen Entnervung mit.

Tabelle XIII. Kaninchen A (Männliches Kaninchen, 2980 g, 10. Nov. 1924).

1. Funktionszustand der beiden Nieren beim normalen Zustande.

a) Bei Brot- und Milchnahrung (150 g Brot, ½ Liter Milch).

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
Nov. 15.	neutral . . .	150	0,28	0,42	7,4	72,5	108,75	—	—
17.	sauer	120	0,31	0,372	7,1	97,5	117,0	—	—
18.	„	170	0,225	0,383	7,1	73,75	125,40	—	—
19.	„	190	0,185	0,352	7,2	72,5	137,75	—	—
20.	„	230	0,118	0,271	7,3	65,0	149,50	—	—
21.	„	85	0,133	0,113	7,2	132,5	112,63	—	—
22.	„	280	0,1	0,28	6,8	52,5	147,00	—	—
	Durchschnitt:	175	0,18	0,313	7,1	80,89	141,56	—	—
	(8. Dezember 1924, Körpergewicht 3000 g).								
Dez. 8.	sauer 1009 . .	135	0,2225	0,3004	7,3	120,0	162,0	117,6	158,7
9.	„ 1016 . .	140	0,1725	0,2415	7,1	110,0	154,0	88,2	123,5
10.	„ 1013 . .	85	0,13	0,1105	7,1	96,2	81,8	117,6	99,9
11.	„ 1014 . .	180	0,15	0,27	6,0	117,5	211,5	78,4	141,1
12.	„ 1013 . .	190	0,1475	0,2803	6,5	92,5	175,8	88,2	167,6
13.	„ 1018 . .	200	0,1925	0,385	6,7	115,0	230,0	68,6	137,2
15.	„ 1020 . .	150	0,2075	0,3113	6,6	105,0	157,5	78,4	117,6
16.	„ 1016 . .	200	0,1475	0,295	6,4	87,5	175,0	53,9	107,8
	Durchschnitt:	160	0,171	0,2742	6,8	105,0	168,0	82,5	132,0

Tabelle XIV. Kaninchen A. b) Bei Pflanzennahrung.

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
Nov. 24.	sauer	160	0,153	0,245	6,5	66,25	106,00	—	—
25.	alkalisch . . .	200	0,05	0,1	7,7	60,0	120,0	—	—
26.	neutral . . .	225	0,1	0,225	7,3	62,5	159,38	—	—
27.	„ . . .	205	0,13	0,2665	7,4	70,25	144,0	—	—
28.	„ . . .	160	0,21	0,336	7,2	83,75	134,0	—	—
29.	schwach alkal.	220	0,125	0,275	7,6	93,75	206,25	—	—
Dez. 1.	sauer	155	0,148	0,2294	7,1	82,5	127,88	—	—
	Durchschnitt:	194	0,132	0,256	7,2	73,4	142,50	—	—
2.	alkalisch 1013	110	0,208	0,228	7,4	86,25	94,88	—	—
3.	neutral 1014 .	240	0,125	0,30	7,3	88,75	213,0	—	—
4.	alkalisch 1011	170	0,15	0,255	7,3	57,5	97,75	—	—
5.	„ 1013	130	0,175	0,2275	7,3	66,25	81,15	—	—
6.	„ 1014	145	0,155	0,225	7,3	115,0	166,76	—	—
	Durchschnitt:	159	0,163	0,236	7,3	82,8	131,7	—	—
17.	alkalisch . . .	100	0,1350	0,135	7,5	127,5	127,5	137,2	137,2
18.	„ 1015	95	0,135	0,123	8,2	110,0	104,5	192,9	97,8
19.	sauer	120	0,14	0,154	6,4	200,0	220,0	186,2	204,8
20.	„ 1021 . .	120	0,145	0,174	7,0	150,0	180,0	166,6	199,9
22.	schwach sauer	150	0,155	0,2325	7,4	172,0	258,0	176,4	264,7
	Durchschnitt:	115	0,1638	0,1884	7,3	151,6	174,3	153,8	176,9

Tabelle XV. 2. Versuch nach der beiderseitigen Entnervung.

a) Bei Brot- und Milchnahrung.

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
		a) Bei Brot- und Milchnahrung.							
Jan.									
10.	sauer 1012 . .	240	0,12	0,288	6,0	65,0	156,0	58,8	141,12
12.	„ 1020 . .	200	0,13	0,26	7,4	62,5	125,0	78,9	156,8
13.	„ 1020 . .	180	0,15	0,27	6,4	67,5	121,5	58,8	105,84
14.	„ 1011 . .	200	0,15	0,3	6,3	65,0	130,0	58,8	117,6
15.	„ 1016 . .	120	0,225	0,27	6,4	115,0	138,0	117,6	141,12
16.	„	160	0,16	0,256	6,6	97,5	156,0	98,0	158,8
	Durchschnitt:	183	0,156	0,286	6,5	69,8	137,75	77,8	136,88

(Körpergewicht am 10. Januar 1925 2700 g.)

b) Bei Pflanzennahrung.

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
19.	sauer 1010 . .	183	0,175	0,315	6,6	72,5	130,5	107,8	194,09
20.	schwach sauer 1008	200	0,12	0,24	7,4	65,0	130,0	88,2	176,4
21.	schwach sauer 1016	140	0,195	0,273	7,6	117,5	164,5	156,8	219,52
22.	sauer 1012 . .	140	0,14	0,196	6,8	87,5	122,5	88,2	123,48
23.	schwach sauer 1011	160	0,113	0,176	7,0	92,5	148,0	147,0	235,2
24.	schwach sauer 1011	160	0,1375	0,22	7,4	77,5	124,0	98,0	156,8
	Durchschnitt:	163	0,146	0,238	7,1	85,4	136,6	113,0	184,2

(Körpergewicht am 22. Januar 1925 2500 g.)

Tabelle XVI. Kaninchen B (Körpergewicht 3400 g, männlich, 5. Jan. 1925.)

1. Funktionsprüfung der beiden Nieren beim normalen Zustand.

a) Bei Brot- und Milchnahrung.

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
Jan.									
7.	sauer 1022 . .	120	0,25	0,30	6,8	97,5	117,0	98,0	117,6
8.	„ 1024 . .	80	0,275	0,22	6,4	102,5	82,0	107,8	86,24
9.	neutral 1026 .	120	0,225	0,27	7,2	67,5	81,0	88,2	105,84
10.	schwach sauer 1016	100	0,17	0,17	7,2	87,5	87,5	107,8	107,8
12.	sauer 1017 . .	80	0,24	0,192	6,0	115,0	86,25	119,4	89,55
13.	„ 1031 . .	75	0,253	0,191	6,0	115,0	106,0	119,4	95,52
14.	„ 1021 . .	90	0,25	0,225	6,8	120,0	108,0	117,6	105,84
15.	„ 1012 . .	120	0,12	0,144	6,4	97,5	117,0	107,8	129,36
	Durchschnitt:	98	0,218	0,214	6,6	100,1	98,9	106,86	104,72
30.	alkalisch 1012	130	0,245	0,319	7,8	120,0	156,0	58,8	76,44
31.	sauer 1021 . .	160	0,29	0,464	6,7	107,5	172,0	88,2	141,12
Febr.									
2.	„ 1024 . .	80	0,363	0,29	6,2	115,0	92,0	119,4	95,52
3.	„ 1022 . .	70	0,31	0,217	6,4	115,0	80,5	117,6	82,32
4.	„	60	0,313	0,188	6,2	157,5	94,5	176,4	105,84
	Durchschnitt:	100	0,295	0,295	6,6	119,0	119,0	100,25	100,25

Tabelle XVII.

b) Bei Pflanzennahrung.

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
Jan.									
19.	sauer	80	0,18	0,124	6,2	122,5	98,0	117,6	94,08
21.	„ 1020 . .	50	0,53	0,265	5,8	215,0	107,5	137,2	68,6
22.	„ 1024 . .	50	0,495	0,248	6,7	230,0	115,0	156,8	78,4
23.	schwach sauer	20	0,18	0,036	7,2	140,0	28,0	176,4	35,28
24.	schwach sauer 1022	100	0,254	0,245	7,2	130,0	130,0	127,4	127,4
26.	neutral . . .	15	0,505	0,076	7,5	230,0	34,5	294,0	44,1
27.	sauer	25	0,71	0,178	7,2	205,0	51,3	147,0	39,25
	Durchschnitt:	48,6	0,344	0,167	6,8	181,8	81,83	165,2	80,28
28.	sauer	70	0,725	0,508	6,4	152,5	106,75	147,0	102,9
29.	„	35	0,91	0,319	6,8	190,0	66,5	233,2	81,62
Febr.	„ 1023 . .	70	0,075	0,053	7,4	175,0	122,5	156,8	109,76
6.	„	50	0,395	0,198	6,6	200,0	100,0	176,4	88,2
7.	„	30	0,34	0,102	6,6	185,0	55,5	225,4	67,62
9.	schwach sauer 1024	60	0,355	0,213	7,6	185,0	111,0	156,8	94,08
10.	sauer	55	0,43	0,237	6,0	87,5	48,13	137,2	75,46
11.	„	70	0,12	0,084	6,4	75,0	52,5	117,6	82,32
	Durchschnitt:	54	0,472	0,255	6,7	153,4	82,86	162,48	87,74

Tabelle XVIII.

2. Versuch nach der beiderseitigen Nierenentnervung.

a) Bei Brot- und Milchnahrung.

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
März									
13.	sauer 1009 . .	250	0,145	0,363	6,6	32,5	81,25	49,0	122,5
14.	„ 1027 . .	145	0,2	0,29	6,8	80,0	116,0	88,2	127,89
16.	„ 1012 . .	190	0,17	0,323	6,0	47,5	90,25	58,8	111,72
17.	„ 1015 . .	220	0,15	0,33	6,6	52,5	113,0	78,4	161,48
18.	„ 1020 . .	110	0,225	0,248	6,2	70,0	77,0	119,4	131,34
19.	„ 1027 . .	85	0,295	0,251	6,2	65,0	55,25	166,6	141,61
	Durchschnitt:	166	0,181	0,301	6,4	53,29	88,79	76,68	132,75
	(Körpergewicht am 19. März 1925 2800 g.)								
20.	sauer 1026 . .	145	0,1675	0,243	6,3	67,5	97,88	78,4	113,68
21.	„ 1017 . .	140	0,11	0,154	6,4	72,5	101,5	88,2	123,48
25.	„ 1010 . .	210	0,13	0,273	5,8	47,5	99,75	68,6	144,06
26.	„ 1016 . .	175	0,34	0,595	6,0	55,0	96,29	58,8	102,9
27.	„ 1018 . .	150	0,21	0,315	6,2	72,5	108,75	49,0	73,5
28.	„ 1015 . .	140	0,12	0,168	6,8	75,0	105,0	58,8	82.32
	Durchschnitt:	160	0,182	0,2913	6,2	63,5	101,53	66,6	106,65

Tabelle XIX.

Kaninchen B (Körpergewicht 3400 g, männlich, 5. Januar 1925).

a) Bei Brot- und Milchnahrung.

Datum	Harn	Menge ccm	P_2O_5 g-Proz.	Gesamt-P_2O_5 g	p_H	Kreatinin mg-Proz.	Gesamt-Kreatinin mg	Sulfat mg-Proz.	Gesamt-Sulfat mg
Febr.									
27.	sauer 1012 . .	80	0,235	0,188	6,6	92,5	74,0	88,2	70,56
28.	„ 1020 . .	110	0,31	0,341	6,8	55,0	60,5	107,8	118,58
März									
2.	„ 1008 . .	100	0,185	0,185	6,8	57,5	57,5	68,6	68,6
3.	„ 1012 . .	110	0,26	0,286	6,4	62,5	68,75	78,4	86,24
4.	„ 1018 . .	110	0,18	0,198	6,6	60,0	66,0	98,0	107,8
5.	„ 1019 . .	100	0,26	0,26	6,6	97,5	97,5	107,8	107,8
	Durchschnitt:	102	0,238	0,243	6,6	69,3	70,7	91,43	93,26
6.	sauer 1012 . .	130	0,245	0,3185	6,4	62,5	81,25	78,4	101,92
7.	„ 1011 . .	120	0,2	0,24	6,7	70,0	84,0	68,6	82,32
9.	„ 1012 . .	125	0,28	0,35	5,8	82,5	103,13	78,4	98,0
10.	„ 1011 . .	120	0,18	0,216	6,7	52,5	63,0	68,6	82,32
11.	„ 1014 . .	105	0,175	0,184	6,0	87,5	91,88	88,2	92,61
12.	„ 1009 . .	125	0,115	0,144	5,4	47,5	59,38	107,8	134,75
	Durchschnitt:	121	0,2	0,242	6,2	66,5	80,44	81,53	98,66

Die Versuche in normalem Zustande ergaben, daß bei Brot- und Milchnahrung die Harnmenge größer ist als bei der Pflanzennahrung. Die Ausscheidung von Phosphorsäure, Kreatinin und Sulfat ist prozentual niedriger. Die Gesamtmenge aber dieser Stoffe, die im Harn ausgeschieden wird, ist größer als bei Pflanzennahrung. Die Wasserstoffionenkonzentration war bei Brot und Milchnahrung größer als bei Pflanzennahrung. Im allgemeinen ist der Harn bei Brot und Milchnahrung hell und dünner, das spezifische Gewicht ist kleiner, die Reaktion stärker sauer als bei der Pflanzennahrung. Was das Verhalten der Wasserstoffionenkonzentration anbelangt, so handelt es sich um bekannte Dinge, die weiter keiner Besprechung bedürfen. Auch die anderen Unterschiede des Harns bei den beiden Ernährungsarten wird man auf die verschiedene Zusammensetzung der betreffenden Nahrungsmittel zurückzuführen haben.

Nach der beiderseitigen Nierenentnervung treten bei beiden Ernährungsarten ganz charakteristische und konstante Unterschiede ein. In auffallender Weise vergrößerte sich die Harnmenge. Prozentual verminderte sich die Ausscheidung der Phosphorsäure, des Kreatinins und der Sulfate, aber die Gesamtmenge von Phosphaten und Sulfaten, die täglich im Harn ausgeschieden wurden, war vermehrt. Das Kreatinin jedoch war sowohl prozentual wie absolut vermindert. Die Wasserstoffionenkonzentration war nach der Entnervung eher etwas vermindert.

Man ersieht aus diesen Ergebnissen, daß erstens die Entnervung der Niere einen deutlichen Einfluß auf die Menge und die Zusammensetzung des Harns hat. Ferner ist es interessant festzustellen, daß die Veränderungen infolge der Entnervung beim Kaninchen genau die gleichen waren wie beim Hunde. Dies spricht dafür, daß beiden Fällen eine gemeinsame Ursache zugrunde liegt. Es fragt sich nur, welches die gemeinsame Ursache sein könnte. Nach der Entnervung wird anfänglich die Durchströmung der Niere eine größere sein. Man war bis vor kurzem geneigt, sobald man sich auf den rein mechanischen Standpunkt stellte, die Vergrößerung der Harnmenge durch die bessere Durchströmung zu erklären. *Richards* und *Plant* haben aber gezeigt, daß nicht die Durchströmung, sondern die Druckveränderung als maßgebend sein soll. Deshalb mußte man die Annahme machen, daß infolge der Entnervung die Druckdifferenz zwischen Kapillaren und Glomeruliinhalt eine größere geworden sei. Die prozentuale Verminderung ließe sich gleichfalls aus der vermehrten Durchströmung erklären, denn während mehr Harn abgesondert wird und wegen rascheren Abfließens des Harns die Resorption beeinträchtigt wird, muß auch die Konzentration an denjenigen Stoffen, die ich bestimmt habe, sich vermindern. Ob man sich bei dieser Erklärung beruhigen will, hängt davon ab, in welchem Grade man der Sicherheit der Voraussetzungen, die in Betracht kommen, traut. Deshalb könnte man ebensogut die beobachteten Tatsachen durch Veränderung der Permeabilität der Nierenzellen infolge des Fehlens des nervösen Einflusses erklären.

Zusammengefaßt, sind die wesentlichsten Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Hunde und Kaninchen wurden unter möglichst physiologischen Bedingungen auf ihre Harnabsonderung untersucht, und es wurden charakteristische Unterschiede je nach der aufgenommenen Nahrung beobachtet.

2. Blasenfisteln am Hunde können nach einer gewissen Zeit zu Veränderungen in der Niere führen, die bei Untersuchungen des etwaigen Einflusses der Nerven in Betracht zu ziehen sind.

3. Die totale Entnervung der Nieren bedingt bei Hunden und Kaninchen gleichsinnige Veränderungen des Harns in bezug auf chemische Zusammensetzung.

4. Diese Veränderungen können teilweise, wenn man gewisse, nicht beweisbare Voraussetzungen zuläßt, durch mechanische Änderungen des Kreislaufs erklärt werden. Sie sind aber ebensogut erklärbar unter der Annahme, daß die Nerven der Niere teilweise die Permeabilität der Nierenzellen regeln.

Literatur.

Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth., Abt. I, S. 898. — *Derselbe*, ebendaselbst **6**, 564. — *Derselbe*, Physiol. Chem. **2**, 599 u. 1831. — *Arnt*, Physiol. chem. Technik. — *L. Asher*, *R. G. Pearce*, Beiträge zur Physiologie der Drüsen, Nr. 20. — *L. Asher* u. *F. Mauerhofer*, Beiträge zur Physiologie der Drüsen, Nr. 32, 1917. — *Asher* und *Jost*, Beiträge zur Physiologie der Drüsen, 1914. — *Asher* und *Hara*, Beiträge zur Physiologie der Drüsen, Nr. 51, 1922. — *Asher*, Praktische Übungen in der Physiologie. — *A. Hirt*, Zeitschr. f. Anat. u. Entwicklungsgesch., I. Abt. d. Zeitschr. f. d. ges. Anat. — *Bernstein*, Lehrb. d. Physiol. d. tierischen Organismen im speziellen d. Menschen. — *O. Bittmann*, Centralorg. f. d. ges. Chirurgie und ihre Grenzgebiete **30**, Heft 10, S. 646, 1925. — *Cyon*, Methodik d. physiol. Experimente u. Vivisektion. — *Ellinger*, Ber. ü. d. ges. Physiol. u. Pharm. **8**, 295, 1921. — *Guillaumin*, ebendaselbst **13**, 441, 1924. — *Koennecke*, Zeitschr. f. urol. Chirurgie **13**, Heft 3/4, 1923. — *Derselbe*, Ber. ü. d. ges. Physiol. u. Pharm. **22**, 114, 1924. — *Landois*, Lehrb. d. Physiol. d. Menschen. — *A. Latarjet*, Centralorg. f. d. ges. Chirurgie und ihre Grenzgebiete **28**, Heft 6, S. 248, 1924. — *Laufberger*, Ber. ü. d. ges. Physiol. u. Pharm. **23**, 242, 1924. — *F. Legueu* und *P. Flandrin*, Centralorg. f. d. ges. Chirurgie und ihre Grenzgebiete **26**, Heft 4, S. 170, 1924. — *Derselbe*, ebendaselbst **25**, Heft 3, S. 178, 1924. — *Lindemann*, Ergebn. d. Physiol. 1924, S. 620. — *E. K. Marshall*, Amer. journ. of Physiol. **49**, 317, 1919. — *Derselbe*, ebendaselbst **62**, 330, 1922. — *Nagel*, Handb. d. Physiol. d. Menschen **2**, 228, 230. — *Neubauer*, Analyse d. Harns, S. 138, 679, 879. — *Oshima*, Centralbl. f. Physiol. **31**, 125, 1917. — *E. Papin*, Centralorg. f. d. ges. Chirurgie und ihre Grenzgebiete **27**, Heft 2, S. 460, 1924. — *J. F. Pawlow*, Ergebn. d. Physiol. I. Biochemie, S. 246. — *Pfizemeier*, Ber. ü. d. ges. Physiol. u. Pharm. **16**, 182, 1923. — *Pico*, ebendaselbst **5**, 261, 1921. — *Derselbe*, ebendaselbst **7**, 449, 1921. — *M. Serés*, Centralorg. f. d. ges. Chirurgie und ihre Grenzgebiete **30**, Heft 15, S. 907, 1925. — *A. Silberstein*, diese Zeitschr. **128**, Heft 4/6, S. 534 bis 539, 1922. — *Sörensen*, Ergebn. d. Physiol. **12**, 398, 1912. — *Tigerstedt*, Lehrb. d. Physiol. d. Menschen. — *Verworn*, Allg. Physiol. — *H. Walthard*, Zeitschr. f. urol. Chirurgie **15**, Heft 5/6, 1924. — *Werner Jost*, Zeitschr. f. Biol. **64**, N. F. 46. — *Willinger*, Ber. ü. d. ges. Physiol. u. Pharm. **26**, 209, 1924. — *Yoshimura*, ebendaselbst **4**, 262, 1924. — *L. Zoja*, Centralorg. f. d. ges. Chirurgie und ihre Grenzgebiete **30**, Heft 2, S. 714, 1925. — *Zuntz* und *Loewy*, Lehrb. d. Physiol. d. Menschen.

Versuche über die Assimilation der Kohlensäure[1].

Von

Otto Warburg (Berlin-Dahlem).

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Versuchsobjekt.

Unser Versuchsobjekt ist Chlorella, eine im Durchmesser 3 bis 6 μ messende Grünalge, die sich leicht im Laboratorium in großen Mengen züchten[2] läßt. Die Kulturflüssigkeit ist eine Lösung von Natriumnitrat, Magnesiumsulfat und saurem Kaliumphosphat, durch die kohlensäurehaltige Luft geleitet wird. Die Geschwindigkeit des Wachstums sowie der Chlorophyllgehalt der entstehenden Zellen hängt von der Intensität der Belichtung ab. Belichtet man schwach, so entstehen bei langsamem Wachstum Zellen, die bis 5 Proz. Chlorophyll[3] enthalten. Belichtet man stark, so entstehen bei schnellem Wachstum Zellen mit einem Chlorophyllgehalt von etwa 2 Proz.

Neben dem Chlorophyll enthält das Assimilationsorgan der Alge die gelben Begleitpigmente des Chlorophylls, Caroten und Xanthophyll, die nach *Willstätters* Methode[4] von dem Chlorophyll getrennt werden können. Die gelben Begleitpigmente absorbieren Licht nur im Blaugrün und Blau, während Chlorophyll in dem ganzen Wellenlängenbereich des sichtbaren Spektrums absorbiert. Der Bruchteil der Gesamtabsorption, der bei der Wellenlänge 436 $\mu\mu$ auf die gelben Pigmente entfällt, beträgt[5] — in dem methylalkoholischen Chlorellaextrakt — etwa 30 Proz.

Durch Schütteln eines Algensediments mit wässerigen Flüssigkeiten werden Suspensionen gewonnen, die sich mit Pipetten wie Flüssigkeiten

[1]) Ein Auszug dieser Zusammenfassung ist in den Naturwissenschaften, Heft 49, 1925, erschienen.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **102**, 250, 1922.

[3]) Ebendaselbst **102**, 266, 1922.

[4]) *Willstätter* und *Stoll*, Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913.

[5]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **106**, 197, 1923.

der Maßanalyse abmessen lassen. Die Alge ist widerstandsfähig gegen mechanische und chemische Einwirkungen. Sie kann ohne Schädigung auf der Zentrifuge aus ihrer Nährlösung abgeschleudert und in andere Lösungen übertragen werden. Sie assimiliert Kohlensäure in Lösungen der verschiedensten Zusammensetzung, in stark sauren und alkalischen Flüssigkeiten und in reinem Wasser[1]). Sie verbraucht bei 20^0 und im Dunkeln pro Stunde ein ihrem Volumen gleiches Volumen an Sauerstoff und zersetzt bei intensiver Bestrahlung pro Stunde etwa das 20fache ihres Volumens an Kohlensäure.

Meßmethoden.

Wir messen die Assimilation gasanalytisch[2]) oder manometrisch[3]). Zur gasanalytischen Messung schließen wir eine Algensuspension mit kohlensäurehaltiger Luft in einen Rezipienten ein und bestimmen Kohlensäure- und Sauerstoffgehalt vor und nach der Bestrahlung. Durch einen gleichzeitig angestellten Dunkelversuch wird die Atmung ermittelt, die bei der Berechnung der Assimilation zu dem Gaswechsel des Hellversuchs zu addieren ist.

Bequemer und genauer als das gasanalytische ist das manometrische Verfahren. Diese Methode ist im Falle der Kohlensäureassimilation nicht ohne weiteres anwendbar, weil ungefähr ebensoviel Sauerstoff entsteht, als Kohlensäure verschwindet, eine nennenswerte Druckänderung im allgemeinen also nicht auftritt. Vergrößert man aber das Flüssigkeitsvolumen gegenüber dem Gasraum, so entstehen — wegen der verschiedenen Löslichkeit des Sauerstoffs und der Kohlensäure — beträchtliche positive Drucke, aus denen die Kohlensäurezersetzung berechnet werden kann. Wir lesen die Manometerausschläge in kurzen Zeitintervallen — etwa von 10 zu 10 Minuten — ab und haben so den gesamten Verlauf der Assimilation vor Augen, ein Vorteil gegenüber dem gasanalytischen Verfahren, das nur den Anfangs- und Endzustand liefert.

Als Manometer benutzen wir sogenannte Blutgasmanometer nach *Barcroft* und *Haldane*[4]) oder Differentialmanometer nach *Barcroft*[5]). Das *Barcroft*sche Differentialmanometer ist einem von *E. Warburg* zur Messung der Desozonisation verwendeten Differentialmanometer[6]) sehr ähnlich und unterscheidet sich von ihm im wesentlichen durch zwei Hähne, durch die zu jeder Zeit die Verbindung mit der äußeren Atmosphäre hergestellt werden kann.

---

[1]) Diese Zeitschr. **100**, 231, 1919.
[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **102**, 252, 1922; diese Zeitschr. **110**, 69, 1920.
[3]) Diese Zeitschr. **100**, 235, 1919; **110**, 71, 1920.
[4]) Journ. of Physiol. **28**, 232, 1902.
[5]) Ebendaselbst **37**, 12, 1908.
[6]) Ann. d. Phys., 4. Folge, **9**, 781, 1902.

Die Assimilationskurve.

Bestrahlt man grüne Zellen bei konstanter Temperatur und Überschuß von Kohlensäure mit verschiedenen Intensitäten i und mißt die Assimilationsgeschwindigkeiten v, so erhält man Kurven von der Form der Abb. 1, in der i und v in willkürlichen Einheiten eingetragen sind[1]). $\frac{dv}{di}$ ist bei kleinen Intensitäten konstant, nimmt mit wachsender Intensität ab und wird schließlich Null.

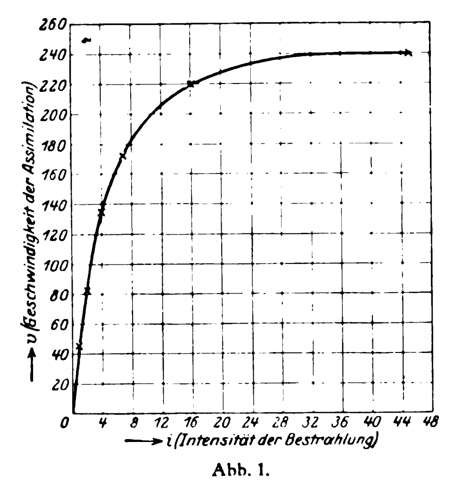


Abb. 1.

Blackman[2]) machte die wichtige Entdeckung, daß die Assimilationsgeschwindigkeit bei niedrigen Intensitäten — in dem Gebiet des geraden Anfangsteils der Kurve — von der Temperatur unabhängig ist, daß aber die Assimilationsgeschwindigkeit bei intensiver Bestrahlung mit der Temperatur stark ansteigt. Es bestimmen also, je nach der Intensität der Bestrahlung, verschiedene Vorgänge die Geschwindigkeit der Assimilation. Wir unterscheiden beide Vorgänge als die „photochemische Reaktion" und die „*Blackman*sche Reaktion" und definieren sie, indem wir die Versuchstemperatur mit ϑ bezeichnen, durch die Bedingungen:

$$\text{Photochemische Reaktion:} \quad \frac{dv}{di} \text{ konstant}, \quad \frac{dv}{d\vartheta} = 0,$$

$$\textit{Blackman}\text{sche Reaktion:} \quad \frac{dv}{di} = 0, \quad \frac{dv}{d\vartheta} > 0.$$

Die *Blackman*sche Reaktion, die durch Bestrahlung nicht beeinflußt wird, ist eine gewöhnliche chemische Reaktion. Sie geht der photochemischen Reaktion voran oder folgt auf sie. Die photochemische Reaktion ist der Vorgang, in dem absorbierte Strahlungsenergie in chemische Energie verwandelt wird. Sie ist, in Übereinstimmung mit den Erfahrungen der allgemeinen Photochemie, von der Temperatur unabhängig und proportional der absorbierten Strahlung.

---

[1]) Diese Zeitschr. **100**, 255, 1919. Ähnliche Kurven für andere Objekte findet man bei *Willstätter* und *Stoll*, Assimilation der Kohlensäure, S. 149. Berlin 1918.

[2]) Ann. of Bot. **19**, 281, 1905.

Wir untersuchen die Assimilation entweder bei sehr schwacher oder bei sehr starker Bestrahlung und vernachlässigen das Zwischengebiet der Intensität, das allerdings das praktisch wichtige ist. Wir trennen so die Einflüsse, die die photochemische Reaktion und die *Blackman*sche Reaktion ausüben. Auch in dieser Darstellung werden wir die Trennung in photochemische Reaktion und *Blackman*sche Reaktion, soweit dies möglich ist, durchführen.

Die photochemische Reaktion.

Charakteristisch für eine photochemische Reaktion ist[1] „die chemische Wirkung, die von der Einheit der absorbierten Strahlungsenergie hervorgebracht wird". In seinen grundlegenden photochemischen Arbeiten nennt *E. Warburg* dieses Verhältnis die spezifische photochemische Wirkung und bezeichnet es mit φ.

Bei der Kohlensäureassimilation wird die photochemisch wirksame Strahlung nicht von derjenigen Substanz absorbiert, die gespalten wird. Die Substanz, die gespalten wird, ist die Kohlensäure, die Substanzen, die die wirksame Strahlung absorbieren, sind — in grünen Zellen — Chlorophyll, Xanthophyll und Caroten. φ bei der Kohlensäureassimilation ist also die zersetzte Kohlensäure, dividiert durch die von den Pigmenten des Chlorophyllkorns absorbierte Strahlungsenergie.

Bei der Kohlensäureassimilation ist die spezifische photochemische Wirkung — für eine bestimmte Wellenlänge — nicht konstant, sondern ändert sich mit der Intensität der Bestrahlung. Wie aus der Form der Assimilationskurve hervorgeht, nimmt φ mit der Intensität der Bestrahlung ab und ist am größten bei kleinen Intensitäten, bei denen die photochemische Wirkung proportional der Intensität ist. Nur dieser besondere Wert von φ, den wir φ_0 nennen, ist für die photochemische Reaktion bei der Kohlensäureassimilation charakteristisch.

Die Versuche von Brown und Escombe.

Wenn auch in der Literatur keine Versuche vorliegen, aus denen die spezifische photochemische Wirkung bei der Kohlensäureassimilation berechnet werden kann, so gibt es doch Arbeiten, die zu unserer Fragestellung in Beziehung stehen.

Brown und *Escombe*[2]) bestrahlten grüne Blätter mit unzerlegtem Sonnenlicht und bestimmten die Kohlensäurezersetzung pro Kalorie auffallender Strahlung. Indem sie die Verbrennungswärme der ent-

---

[1]) *E. Warburg*, Quantentheoretische Grundlagen der Photochemie, Zeitschr. f. Elektrochem. **26**, 54, 1920.

[2]) Proc. Roy. Soc. London, Ser. B., **76**, 29, 1905.

standenen Kohlehydrate mit der Energie der auffallenden Sonnenstrahlung verglichen, konnten sie das Verhältnis

$$\frac{\text{gewonnene chemische Energie}}{\text{Energie der auffallenden Sonnenstrahlung}}$$

berechnen.

Brown und *Escombe* arbeiteten zum Teil mit ungeschwächtem Sonnenlicht, zum Teil mit geschwächtem Sonnenlicht und gingen bei ihren Versuchen bis auf Intensitäten von $^1/_{12}$ Sonnenlichtintensität herunter. Hierbei stieg, wie es nach der Assimilationskurve sein muß, die Ausnutzung des Sonnenlichtes. Bei $^1/_{12}$ Sonnenlichtintensität fanden sie, daß 4,1 Proz. der auffallenden Sonnenenergie in chemische Energie verwandelt wurde.

Bei den Versuchen von *Brown* und *Escombe* wurde ein Teil der auf das Blatt fallenden Sonnenstrahlung reflektiert und zerstreut, ein Teil von der farblosen Blattsubstanz (Wärmestrahlen) und von den Pigmenten des Chlorophyllkorns absorbiert. Der Rest ging durch das Blatt durch und konnte von einem auf der Rückseite des Blattes aufgestellten Meßinstrument aufgefangen werden. Dieser Rest betrug im Durchschnitt 25 Proz. der auffallenden Energie. Da dieser Rest sicher photochemisch unwirksam war, so schlossen *Brown* und *Escombe*, daß mindestens 6 Proz. der auffallenden Sonnenenergie in chemische Energie verwandelt werden können.

Die Rechnung von F. Weigert.

Aus den Versuchen von *Brown* und *Escombe* kann die spezifische photochemische Wirkung nicht berechnet werden, weil die von den Pigmenten des Chlorophyllkorns absorbierte Strahlungsenergie nicht gemessen worden ist. Wir erfahren zwar, daß die Strahlungsintensität auf der Hinterseite des Blattes um 75 Proz. kleiner ist als auf der Vorderseite des Blattes, aber wir erfahren nicht, wieviel von diesem Verlust auf Rechnung der Absorption durch die Blattpigmente zu setzen ist.

In Zusammenhang mit der Frage der Absorption steht folgender Versuch, den *Brown* und *Escombe* in ihrer Arbeit, ohne weitere Schlüsse aus ihm zu ziehen, mitteilten: Grüne und weiße (sogenannte Albino-) Blätter derselben Pflanze, des Acer negundo, wurden mit unzerlegtem Sonnenlicht bestrahlt und die Intensität des Sonnenlichtes auf der Vorder- und Rückseite der Blätter gemessen. War die Intensität auf der Vorderseite der Blätter 100, so waren die Intensitäten auf der Hinterseite

des weißen Blattes	25,5
des grünen Blattes	21,3

Aus diesem Versuch berechnete *Weigert*[1]) die von den Pigmenten des grünen Blattes absorbierte Energie zu 25,5 — 21,3 = 4,2 Proz.

[1]) Zeitschr. f. wiss. Photogr. **11**, 381, 1912.

Da nun nach *Brown* und *Escombe* bei Bestrahlung mit $^1/_{12}$ Sonnenlichtintensität 4,1 Proz. der auffallenden Energie als chemische Energie gewonnen werden, so berechnete *Weigert* die Ausbeute an chemischer Energie bei $^1/_{12}$ Sonnenlichtintensität zu

$$\frac{4,1}{4,2} \cdot 100 = 98 \text{ Proz.}$$

Bei $^1/_{12}$ Sonnenlichtintensität macht sich, worauf *Brown* und *Escombe* ausdrücklich hinweisen, *eben* ein Einfluß der Intensität auf die photochemische Wirkung bemerkbar. Bei $^1/_{12}$ Sonnenlichtintensität befinden wir uns also an einer Stelle der Assimilationskurve, an der sie beginnt, sich gegen die x-Achse zu neigen (etwa Punkt $i = 16$ der Abb. 1). Geht man auf niedrigere Intensitäten herunter, so steigt die Ausnutzung der Energie — die immer proportional dem Verhältnis $\frac{\text{Ordinate}}{\text{Abszisse}}$ der Assimilationskurve ist —, und zwar, wenn man in Abb. 1 von $i = 16$ auf $i = 1$ heruntergeht, auf das Dreifache. Wäre also der Gewinn an chemischer Energie bei $^1/_{12}$ Sonnenlichtintensität 98 Proz., so wäre er bei niedriger Intensität rund 300 Proz.

Es folgt daraus, daß die Rechnung von *Weigert* auch nicht der Größenordnung nach richtig sein kann. *Weigert* übersah, worauf *Willstätter*[1]) aufmerksam machte, daß die Lichtschwächungen durch die weiße Blattsubstanz in dem grünen und dem weißen Blatte nicht gleich sind. Die lichtschwächende Wirkung der weißen Substanz ist in dem grünen Blatte kleiner als in dem weißen Blatte, weil in jedes innerhalb des grünen Blattes liegende Volumenelement weniger Lichtenergie einströmt als in ein entsprechendes Volumenelement des weißen Blattes.

Man kann heute, wo der Energieumsatz bei niedrigen Intensitäten bekannt ist, den Energieumsatz bei den von *Brown* und *Escombe* angewandten Intensitäten schätzen und als Höchstgrenze 20 Proz. angeben, das ist ein Fünftel des von *Weigert* berechneten Wertes. Die von den Pigmenten des grünen Blattes absorbierte Energie war mindestens fünfmal so groß, wie *Weigert* annahm.

Trotzdem bleibt *Weigert* dabei[2]), daß durch den Versuch mit dem weißen und grünen Blatte, aus dem er den Energieumsatz berechnete, die von den Blattpigmenten absorbierte Energie „gemessen" worden sei, wenn auch „ungenau", und gründet auf diese, nur dem Wortlaut nach zutreffende Behauptung einen Prioritätsanspruch.

---

[1]) Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, S. 120. Berlin 1918.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 106, 313, 1923.

Ältere Versuche über die Wirkung der Spektralbezirke.

Während *Brown* und *Escombe* mit unzerlegtem Sonnenlicht arbeiteten, haben andere Autoren die Wirkung der verschiedenen Spektralbezirke untersucht, so *Draper*[1]), *Pfeffer*[2]), *Engelmann*[3]), *Timiriazeff*[4]), *Kniep* und *Minder*[5]) und viele andere.

Draper zerlegte Sonnenlicht mittels eines Prismas, ließ die Spektralbezirke getrennt auf grüne, in kohlensäurehaltigem Wasser befindliche Blätter einwirken und bestimmte den bei der Kohlensäurezersetzung entwickelten Sauerstoff. *Draper* fand die folgenden relativen Sauerstoffmengen, bezogen auf gleiche Blattmengen und Versuchszeiten:

	Sauerstoffentwicklung
Im intensiven Rot und Rot	—
„ Rot und Orange	25
„ Gelb und Grün	44
„ Grün und Blau	4
„ Blau	1
„ Indigo	0
„ Violett	0

Pfeffer wiederholte die Versuche von *Draper* mit dem Unterschied, daß er an Stelle des Prismas Farbfilter verwandte und an Stelle des entwickelten Sauerstoffs die zersetzte Kohlensäure bestimmte. Er fand die folgenden relativen Kohlensäurezersetzungen, bezogen auf gleiche Blattmengen und Versuchszeiten:

	Kohlensäurezersetzung
Im Rot und Orange	32
„ Gelb	46
„ Grün	15
„ Blau, Indigo und Violett	7,6

Mit einer anderen Methode arbeitete *Engelmann*. *Engelmann* beobachtete, daß sich gewisse Fäulnisbakterien an Stellen höherer Sauerstoffkonzentration ansammeln. Brachte er solche Bakterien mit einem Algenfaden in einen hängenden Tropfen und projizierte auf den Algenfaden ein Spektrum, so häuften sich die Bakterien in den verschiedenen Farben nach Maßgabe der Sauerstoffausscheidung an. Die Höhen der Bakterienhaufen betrachtete *Engelmann* als Maß der photochemischen Wirkungen und fand so im Normalspektrum der Sonne die folgenden relativen Wirkungen:

[1]) *J. W. Draper*, Ann. de Chim. et de Phys. (3), **11**, 214, 1844.

[2]) *W. Pfeffer*, Arbeiten des Botanischen Instituts in Würzburg **1**, 1. Leipzig 1874.

[3]) *Th. W. Engelmann*, Bot.-Ztg. **39**, 441, 1881; **40**, 419, 1882; **41**, 1, 1883.

[4]) *C. Timiriazeff*, Proc. Roy. Soc. London **72**, 424, 1904 (Croonian Lecture).

[5]) Zeitschr. f. Bot. **1**, 619, 1909.

				*Fraunhofer*sche Linien:				
a	$B\frac{1}{2}C$	$C\frac{1}{2}D$	D	$D\frac{1}{2}E$	$E\frac{1}{2}b$	$E\frac{1}{2}F$	F	G
				Relative Wirkung:				
6	100	81	55	44	36	70	86	47

Neben den relativen photochemischen Wirkungen bestimmte *Engelmann* die Bruchteile γ der auffallenden Strahlung, die von seinem Versuchsobjekt in den verschiedenen Farben absorbiert wurden. Trug er diese Bruchteile neben den photochemischen Wirkungen als Funktion der Wellenlänge auf, so erhielt er zwei Kurven von ähnlichem Verlauf, woraus er schloß, daß „Assimilation und Absorption zusammengehen".

Wenn dieser Schluß mehr besagen soll, als daß nur absorbierte Strahlung wirkt, so ist er unrichtig. Die von *Engelmann* gemessenen γ-Werte standen nicht im Verhältnis der absorbierten Energiemengen, weil die auffallenden Intensitäten in den verschiedenen Spektralbezirken ungleich waren.

Im ganzen folgte aus den früheren Arbeiten über Assimilation in verschiedenfarbigem Lichte — von denen hier nur die wichtigsten erwähnt sind —, daß in jedem Bezirk des sichtbaren Spektrums Kohlensäure assimiliert wird, aber nicht *mehr*. Insbesondere blieb die spezifische photochemische Wirkung sowohl absolut als auch relativ unbestimmt, weil die absorbierte Energie weder absolut noch relativ gemessen worden war.

Messung der spezifischen photochemischen Wirkung[1].

Wir umgehen die Schwierigkeiten der Absorptionsmessung, indem wir mit vollständiger Absorption arbeiten, d. h. wir füllen in unsere Versuchströge so dichte Suspensionen von Chlorella ein, daß die gesamte in die Tröge eingestrahlte Energie absorbiert wird. Dann ist die absorbierte Energie gleich der eingestrahlten Energie.

Wir messen die eingestrahlte Energie bolometrisch nach einer von *E. Warburg* und seinen Mitarbeitern angegebenen Methode[2], die wir in dem Laboratorium der Herren *E. Warburg* und *C. Müller* gelernt haben. Die Intensität der eingestrahlten Energie ist im Mittel $3 \cdot 10^{-5}$ cal/qcm $\times$ Sek., die bestrahlte Fläche mißt 17 qcm, die Versuchszeit beträgt 10 Minuten. Es werden also im Mittel $600 \cdot 17 \cdot 3 \cdot 10^{-5}$ $= 0{,}3$ cal während eines Versuchs in den Assimilationstrog eingestrahlt.

Wir messen die photochemische Wirkung manometrisch. Als Sperrflüssigkeit benutzen wir Capronsäure, weil sie leicht beweglich ist und trotzdem — bei Zimmertemperatur — nur einen kleinen Dampf-

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **102**, 235, 1922; **106**, 191, 1923 (mit *E. Negelein*).

[2]) *E. Warburg, G. Leithäuser, E. Hupka* und *C. Müller*, Ann. d. Phys. (4), **40**, 609, 1913.

druck besitzt. Die Manometerausschläge betragen, wenn 0,3 cal eingestrahlt sind, 10 bis 20 mm Capronsäure und werden mit einem Kathetometermikroskop auf 5 Proz. genau abgelesen. Erheblich genauer ist die bolometrische Strahlungsmessung, so daß die spezifische photochemische Wirkung im allgemeinen auf 5 Proz. genau erhalten wird.

Bei jeder Messung prüfen wir, ob die Intensität hinreichend klein ist, indem wir die Intensität der eingestrahlten Energie variieren. Die in gleichen Zeiten beobachteten Manometerausschläge, dividiert durch die Intensitäten, müssen dann gleich sein.

Als Strahlungsquelle benutzen wir für die Rotversuche eine Metallfadenlampe, aus deren Strahlung wir durch prismatische Zerlegung einen von 610 bis 690 $\mu\mu$ reichenden Spektralbezirk gewinnen. Für die Versuche im Gelb, Grün und Blau isolieren wir aus der Strahlung der Quecksilberdampflampe die Linien 578, 546 und 436 $\mu\mu$ mit Hilfe von Strahlenfiltern.

Ergebnis der Messungen.

In Tabelle I ist das Ergebnis der Messungen zusammengestellt. Spalte 2 enthält die φ_0-Werte in cmm CO_2/cal, Spalte 3 in Molen CO_2/cal, Spalte 4 in cal/cal . 100. Bei der Umrechnung von Molen in Kalorien ist angenommen, daß die Energiegleichung der Kohlensäureassimilation ist:

$$6\,\{CO_2\} + 6\,(H_2O) = [C_6H_{12}O_6] + 6\,\{O_2\} - 674000\ \text{cal.}$$

Die φ_0-Werte der Tabelle sind Mittelwerte, und zwar im Rot aus 18, im Gelb aus 36 und im Blau aus 20 φ_0-Messungen. Im Grün haben wir nur zwei mehr orientierende Messungen ausgeführt, weil die Versuche im Grün weniger genau sind (Fehlergrenze etwa 10 Proz.). Aus diesem Grunde sind die Grünwerte in der Tabelle eingeklammert.

Tabelle I.

1	2	3	4	5
Spektralbezirk	φ_0 $\frac{\text{cmm } CO_2}{\text{cal.}}$	φ_0 $\frac{\text{Mole } CO_2}{\text{cal.}}$	φ_0 $\frac{\text{cal.}}{\text{cal.}} \cdot 100$	Absorptionskoeffizient α einer methylalkoholischen Lösung d. Chlorella-Pigmente
Rot 610 bis 690 $\mu\mu$ Schwerpunkt 660 $\mu\mu$	117	$5{,}3 \cdot 10^{-6}$	59	1,04
Gelb 578 $\mu\mu$	106	$4{,}8 \cdot 10^{-6}$	54	0,207
Grün 546 $\mu\mu$	(88)	$(4{,}0 \cdot 10^{-6})$	(44)	0,115
Blau 436 $\mu\mu$	67	$3{,}0 \cdot 10^{-6}$	34	2,67

Aus der Tabelle erkennt man:

1. daß die spezifische photochemische Wirkung in den vier untersuchten Spektralgebieten bemerkenswert groß ist; drückt man die Wirkung in Kalorien aus, so werden im Rot fast 60 Proz. der absorbierten Strahlungsenergie als chemische Energie gewonnen;

2. daß die spezifische photochemische Wirkung im Spektrum von Rot nach Blau hin abnimmt. Die Wirkung im Blau ist etwas mehr als halb so groß wie die Wirkung im Rot, dazwischen liegen die Werte für Gelb und Grün. Eine Beziehung der spezifischen photochemischen Wirkung zu der Stärke der Absorption besteht nicht. Der Absorptionskoeffizient einer Lösung der Chlorellapigmente ist im Blau am größten, wo die Wirkung am kleinsten ist. (Vgl. Spalte 5 der Tabelle und Abb. 2, in der die Absorptionskoeffizienten a einer methylalkoholischen Pigmentlösung als Funktion der Wellenlänge dargestellt sind. a ist $\frac{-di/dx}{i}$, $-di$ die Abnahme der Lichtintensität i auf dem Wege dx.)

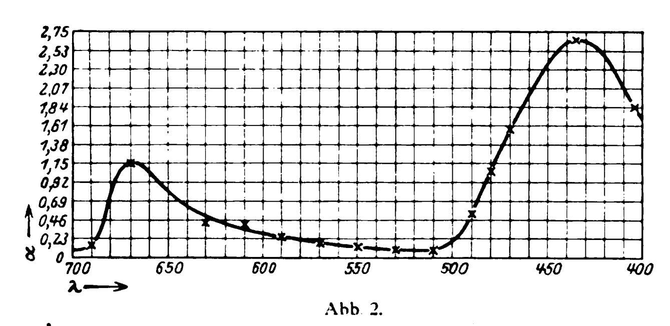


Abb. 2.

Die spezifische photochemische Wirkung nach R. Wurmser.

Kürzlich hat *R. Wurmser*[1]) versucht, die spezifische photochemische Wirkung bei der Kohlensäureassimilation zu messen und als Versuchsobjekt Ulva lactuca benutzt. Die Spektralbezirke waren Rot und Grün. Für φ_0 im Rot gibt *Wurmser* 60 Proz., für φ_0 im Grün 80 Proz. an.

Ähnlich wie *Weigert* berechnete *Wurmser* die Lichtabsorption aus den Lichtschwächungen, die grüne und weiße (entfärbte) Ulvastücke hervorbrachten. Da dieses Verfahren, wie oben erörtert, nicht einmal der Größenordnung nach richtige Werte liefert, so können wir die *Wurmser*schen Zahlen nicht gelten lassen und halten auch seine Bestätigung unserer Rotversuche für ein zufälliges Rechenergebnis.

Wurmser selbst betrachtet seine Messungen nicht als endgültig. Im besonderen legt er auf den von ihm gefundenen Unterschied zwischen

[1]) Ann. d. Physiol. **1**, 47, 1925.

der Ausbeute im Rot und im Grün keinen Wert, spricht vielmehr die Vermutung aus, daß der Energieumsatz im ganzen Bereich des Spektrums gleich sei. Diese Ansicht wird weder durch unsere Messungen, noch durch seine eigenen Messungen gestützt und ist auch nach den Erfahrungen der allgemeinen Photochemie wenig wahrscheinlich.

Zahl der bei der Assimilation verbrauchten Quanten.

Wenn der chemische Mechanismus der Kohlensäureassimilation in den verschiedenen Spektralbezirken gleich ist — wofür vieles spricht —, so kann der Energieumsatz in den verschiedenen Spektralbezirken *nicht* gleich sein. Gleich wäre dann vielmehr die Zahl der an dem Vorgang beteiligten Elementarvorgänge oder, nach der Lichtquantentheorie von *Planck* und *Einstein*, die Zahl der bei der Spaltung eines Kohlensäuremoleküls verbrauchten Quanten. Diese Betrachtungsweise hat den Vorzug, daß sie die Abnahme der spezifischen photochemischen Wirkung von Rot nach Blau hin erklärt, denn die Energie eines Quantums ist im Rot kleiner als im Blau. Die Betrachtungsweise hat den weiteren Vorzug, daß sie an Erfahrungen der allgemeinen Photochemie anknüpft, denn *E. Warburg*[1]) hat gefunden, daß bei der Photolyse der Halogenwasserstoffsäuren durch Licht verschiedener Wellenlängen die Zahl der pro Molekül verbrauchten Quanten gleich ist, also unabhängig von der Energie der Quanten.

Zur Prüfung unserer Annahme berechnen wir die Zahl der pro Molekül Kohlensäure verbrauchten Quanten aus den φ_0-Werten der Tabelle I (Spalte 3) und dem Energiegehalt von einem Mol Quanten ($N_0 h\nu$), der in den drei Versuchsspektralbezirken ist

im Rot (λ 660 $\mu\mu$) . . . . . . 43000 cal
„ Gelb (λ 578 $\mu\mu$) . . . . . 49200 „
„ Blau (λ 436 $\mu\mu$) . . . . . 65100 „

und finden, daß

im Rot 4,4
„ Gelb 4,4
„ Blau. 5,1

Quanten pro Molekül Kohlensäure verbraucht werden.

Berechnet man die Quantenzahlen nicht aus den Mittelwerten von φ_0, die in der Tabelle angegeben sind, sondern aus den gefundenen Höchstwerten, so ist die Zahl der pro Molekül Kohlensäure verbrauchten Quanten

im Rot 4,1
„ Gelb 3,8
„ Blau 4,6

---

1) Zeitschr. f. Elektrochem. 26, 54, 1920.

Berücksichtigt man die Fehlerquellen der Messungen, so ist die Zahl der pro Molekül Kohlensäure verbrauchten Quanten im Rot und Gelb gleich, nämlich 4, im Blau größer, nämlich 5. Die Quantentheorie erklärt also die Abnahme der spezifischen photochemischen Wirkung von Rot nach Gelb, während die Abnahme von Gelb nach Blau größer ist, als nach der Quantentheorie zu erwarten wäre. Wahrscheinlich spielt hierbei der Umstand eine Rolle, daß im Blau neben dem Chlorophyll die Begleitpigmente Xanthophyll und Caroten absorbieren.

Photochemische Sauerstoffübertragung durch Chlorophyll.

Bestrahlt man eine eosinhaltige Jodkaliumlösung unter Zutritt von Luft, so wird, wie *W. Straub*[1]) im Jahre 1904 fand, Jodkalium unter Abscheidung von Jod oxydiert. Eosin überträgt, wenn es belichtet wird, molekularen Sauerstoff. Andere Beispiele photochemischer Sauerstoffübertragung wurden von *Tappeiner*[2]), *Jodlbauer*[2]), *Neuberg*[3]), *Willstätter*[4]) und von *Noack*[5]) beschrieben.

Wir untersuchten mit *H. Gaffron* die photochemische Sauerstoffübertragung durch organische Farbstoffe quantitativ, indem wir die übertragenen Sauerstoffmengen mit den absorbierten Strahlungsenergien verglichen. Dabei zeigte sich, daß das Verhältnis

$$\frac{\text{übertragener Sauerstoff}}{\text{absorbierte Strahlungsenergie}}$$

von Rot und Blau hin abnimmt, ähnlich wie φ bei der Kohlensäureassimilation.

Weiterhin zeigte sich, daß es Fälle gibt, in denen das *Einstein*sche photochemische Äquivalentgesetz nahezu erfüllt ist, so bei gewissen, von *Gaffron* gefundenen Sauerstoffübertragungen durch Chlorophyll oder durch Hämatoporphyrin. In diesen Fällen wird für jedes absorbierte Lichtquantum nahezu ein Molekül Sauerstoff übertragen, wie die Tabelle auf folgender Seite zeigt.

Die Tatsache, daß außerhalb der Zelle, unter einfachen experimentellen Bedingungen, die photochemische Wirkung des Chlorophylls proportional der Zahl der absorbierten Quanten ist, beweist, daß die quantentheoretische Behandlung des Assimilationsvorgangs berechtigt ist. Denn so verschiedene Vorgänge die photochemische Sauerstoff-

---

[1]) Archiv exper. Path. und Pharm. 51, 383, 1904.
[2]) Deutsches Archiv f. klin. Med. 82, 250, 1905. Vgl. auch Ergebnisse der Physiologie 8, 698, 1909.
[3]) Diese Zeitschr. 13, 305, 1908; 61, 315, 1914.
[4]) Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918.
[5]) Zeitschr. für Botanik, 17, 481, 1925.

übertragung durch Chlorophyll und die photochemische Kohlensäurereduktion durch Chlorophyll auch sind, so unzweifelhaft ist es, daß die photochemischen Primärreaktionen in beiden Fällen identisch sind.

Tabelle II. Sauerstoffübertragung im Licht der gelben, grünen und blauen Quecksilberlinie.

	Farbe	Wellenlänge $\mu\mu$	Übertragener Sauerstoff (cmm) / absorb. Strahlungsenergie (cal.)	Zahl der übertrag. O_2-Moleküle / Zahl der absorbierten Quanten
Sauerstoffübertragung durch Chlorophyll	gelb	578	332	0,74
	blau	436	256	0,75
Sauerstoffübertragung durch Hämatoporphyrin	grün	546	338	0,79
	blau	436	276	0,81

Energieübertragung an Oberflächen.

Obwohl in der assimilierenden Zelle bis 60 Proz. der absorbierten Strahlungsenergie von den Pigmenten des Chlorophyllkorns auf die Kohlensäure übertragen werden, ist eine solche Energieübertragung außerhalb der Zelle bisher nie nachgewiesen worden[1]). Bestrahlt man kohlensäurehaltige Lösungen von Chlorophyll oder anderen Farbstoffen mit Wellenlängen des sichtbaren Spektrums, so bleibt die Kohlensäure unverändert. Dies beweist, daß die Bedingungen, unter denen die Energieübertragung in der assimilierenden Zelle erfolgt, verschieden sind von den Bedingungen, die in kohlensäurehaltigen Farbstofflösungen herrschen.

In der Tat läßt sich zeigen, daß die Energieübertragung in assimilierenden Zellen kein Vorgang ist, der sich in Lösung abspielt[2]).

[1]) Entgegengesetzte Angaben der Literatur haben sich als unrichtig erwiesen. Eine Kritik der älteren Angaben findet man bei *Willstätter* und *Stoll*, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918. Neuerdings gibt *Baly* an (*Baly*, *Morris*, *Heilbron* und *Baker*, Journ. Chem. Soc. London **119**, 1025, 1921), daß bei Belichtung kohlensäurehaltiger Malachitgrünlösungen Spuren von Formaldehyd erhalten werden. In der Arbeit von *Baly* wie in ähnlichen früheren Arbeiten fehlt der Nachweis, daß die organische Substanz aus der Kohlensäure stammt, d. h., der durch keinen anderen Versuch ersetzbare Versuch, daß der Kohlensäuregehalt der Versuchsflüssigkeiten bei der Bestrahlung abnimmt. Daß Kohlensäure durch Ultraviolett der Wellenlänge 200 $\mu\mu$ gespalten wird (*Baly*, l. c.), ist zwar eine an sich interessante Tatsache, hat aber mit der Wirkung der langen Wellen des sichtbaren Lichtes, die in assimilierenden Zellen die Kohlensäure spalten, nichts zu tun.

[2]) Diese Zeitschr. **100**, 269, 1919; **103**, 196, 188.

Bringt man in assimilierende Zellen chemisch indifferente Stoffe, die von festen Grenzflächen adsorbiert werden, so sinkt die spezifische photochemische Wirkung und kann bei geeigneter Konzentration des zugefügten Stoffes fast Null werden. Hierbei bleibt die Zelle am Leben, ihre Farbe unverändert. Die Lichtenergie wird also von der „narkotisierten" Zelle in normaler Weise absorbiert, aber nicht auf die Kohlensäure übertragen, sondern als Wärme von der Zelle wieder abgegeben.

Läßt man verschiedene chemisch indifferente Stoffe auf assimilierende Zellen einwirken und vergleicht ihre Wirkungsstärken, so findet man, daß sie mit den Adsorptionskonstanten wachsen. Je stärker ein Stoff adsorbiert wird, um so stärker hemmt er die Energieübertragung. Dieselben Stoffe hemmen, nach ihren Wirkungsstärken geordnet, in derselben Reihenfolge Reaktionen, die sich an der Oberfläche von Kohle abspielen. Es ist daraus zu schließen, daß die Energieübertragung bei der Kohlensäureassimilation ein Vorgang ist, der sich an Oberflächen abspielt.

Daß die Energie auf diese Weise auf die Kohlensäure übertragen und wieviel Energie dabei auf die Kohlensäure übertragen wird, ist kurz zusammengefaßt das Ergebnis unserer Arbeiten über die photochemische Reaktion bei der Kohlensäureassimilation.

Die Blackmansche Reaktion.

Von den Versuchen mit niedriger Strahlungsintensität gehen wir, indem wir das Zwischengebiet der Intensität überspringen, zu Versuchen mit hoher Strahlungsintensität über, bei denen die Bedingung $\frac{dv}{di} = 0$ erfüllt ist. Dann verschwindet der Einfluß der photochemischen Reaktion und wir haben es ausschließlich mit der *Blackman*schen Reaktion zu tun.

Dabei ist zu beachten, daß die Bedingung $\frac{dv}{di} = 0$ bei jeder Variation der Versuchsbedingungen bestehen bleiben muß. Finden wir, daß bei Zusatz irgend einer Substanz die Assimilationsgeschwindigkeit von v auf v' sinkt, so dürfen wir die Wirkung der Substanz nur dann auf die *Blackman*sche Reaktion beziehen, wenn nicht nur

$$\frac{dv}{di} = 0,$$

sondern auch

$$\frac{dv'}{di} = 0$$

ist.

Hemmung der Blackmanschen Reaktion durch Narkotica.

Die *Blackman*sche Reaktion verhält sich in *einer* Beziehung ähnlich wie die photochemische Reaktion. Auch die *Blackman*sche Reaktion wird durch chemisch indifferente Stoffe nach Maßgabe ihrer Adsorptionskonstanten gehemmt[1]), auch die *Blackman*sche Reaktion ist also ein Vorgang, der sich an Oberflächen abspielt.

Die Empfindlichkeit beider Vorgänge gegen Narkotica ist ungefähr die gleiche und beträchtlich größer als die Empfindlichkeit der Atmung. So finden wir bei einer Phenylurethankonzentration von $0{,}5 \cdot 10^{-4}$ Molen/Liter eine starke Hemmung sowohl der photochemischen Reaktion als auch der *Blackman*schen Reaktion, während die Atmung erst durch die zehnfache Phenylurethankonzentration gehemmt wird.

Hemmung der Blackmanschen Reaktion durch Blausäure und Schwefelwasserstoff.

Abweichend von der photochemischen Reaktion wird die *Blackman*sche Reaktion durch Blausäure spezifisch gehemmt. Um dies zu zeigen, teilen wir eine Chlorellasuspension in zwei Teile und fügen zu dem einen Teil Blausäure. Bestrahlen wir stark, so finden wir in Blausäure die Kohlensäurezersetzung gehemmt, bestrahlen wir schwach, so finden wir in Blausäure die Kohlensäurezersetzung normal und ungehemmt.

Variieren wir die Blausäurekonzentrationen, so sind die Hemmungen der *Blackman*schen Reaktion bei einer Blausäurekonzentration

von $0{,}5 \cdot 10^{-5}$ Molen/Liter . . . 20 Proz.
„ $1{,}0 \cdot 10^{-4}$ „ . . . 55 „
„ $1{,}0 \cdot 10^{-3}$ „ . . . 95 „

Da Blausäure eine besondere Affinität zu Schwermetall besitzt und Vorgänge antikatalytisch hemmt[2]), die Schwermetallkatalysen sind, so schließen wir aus dem Verhalten der *Blackman*schen Reaktion gegen Blausäure, daß eine Schwermetallkatalyse vorliegt. Ist dies wahr, so müssen auch andere Stoffe, die mit Schwermetall reagieren, die *Blackman*sche Reaktion hemmen.

In der Tat hemmt Schwefelwasserstoff die *Blackman*sche Reaktion in sehr kleinen Konzentrationen. Nach *E. Negelein*[3]) sind die Hemmungen der *Blackman*schen Reaktion bei einer Schwefelwasserstoffkonzentration

von 10^{-6} Molen/Liter . . . . . 12 Proz.
„ 10^{-5} „ . . . . . 72 „
„ 10^{-4} „ . . . . . 100 „

---

[1]) Nach Messungen von *A. v. Ranke*, vgl. diese Zeitschr. **100**, 230, 1919; **108**, 188, 1920.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **58**, 1001, 1925.

[3]) Diese Zeitschr. **165**, 203, 1925.

ein Ergebnis, das, wie man fast sagen kann, den Schluß, den wir gezogen haben, beweist und jedenfalls durch keine andere Theorie erklärt werden kann.

Schon vor Jahren hat *B. Moore*[1]) die Vermutung geäußert, ein Schwermetall, nämlich Eisen, spiele bei der Kohlensäureassimilation eine Rolle. Diese Vermutung, obwohl experimentell kaum begründet, war im ganzen richtig. Unrichtig an ihr war die Idee, daß das Schwermetall an der Absorption und Übertragung der Strahlungsenergie beteiligt sei, denn die photochemische Reaktion wird durch Blausäure nicht spezifisch gehemmt.

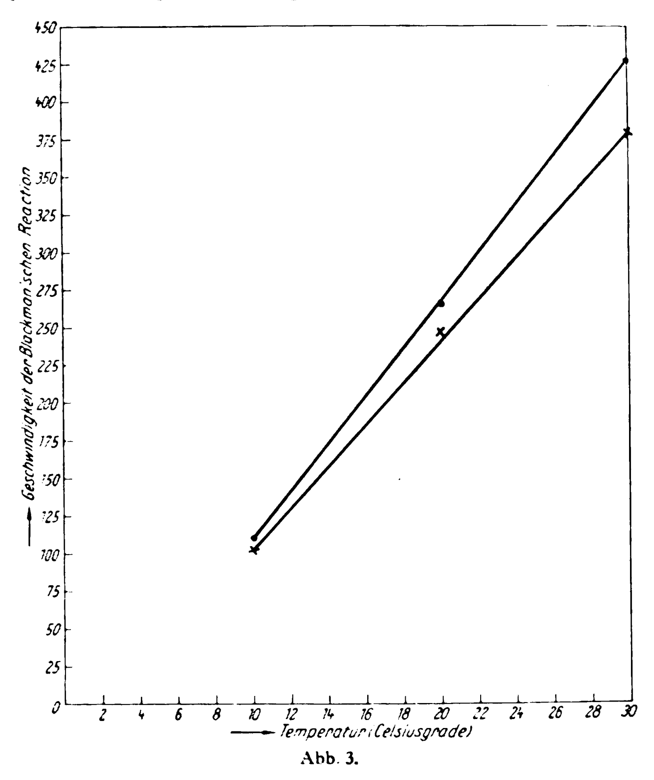


Abb. 3.

Der Einfluß der Temperatur.

Trägt man die Geschwindigkeit der *Blackman*schen Reaktion v als Funktion der Temperatur ϑ in ein Koordinatensystem ein, so erhält man die Kurve der Abb. 3. Zwischen 10 und 30° ist v nahezu eine lineare Funktion von ϑ, $\frac{dv}{d\vartheta}$ also konstant[2]).

[1]) *B. Moore*, Proc. Roy. Soc., Ser. B, **87**, 556, London 1914.

[2]) Nach Versuchen von *Muneo Yabusoe*, diese Zeitschr. **152**, 498, 1924.

Im allgemeinen ist $\frac{dv}{d\vartheta}$ bei chemischen Reaktionen in Zellen nicht konstant, sondern nimmt mit steigender Temperatur stark zu. Statt $\frac{dv}{d\vartheta}$ ist oft $\frac{dv/d\vartheta}{v}$ konstant, also log v eine lineare Funktion der Temperatur. Diesen „normalen" Einfluß der Temperatur finden wir beispielsweise für die Atmung der Chlorella (Abb. 4).

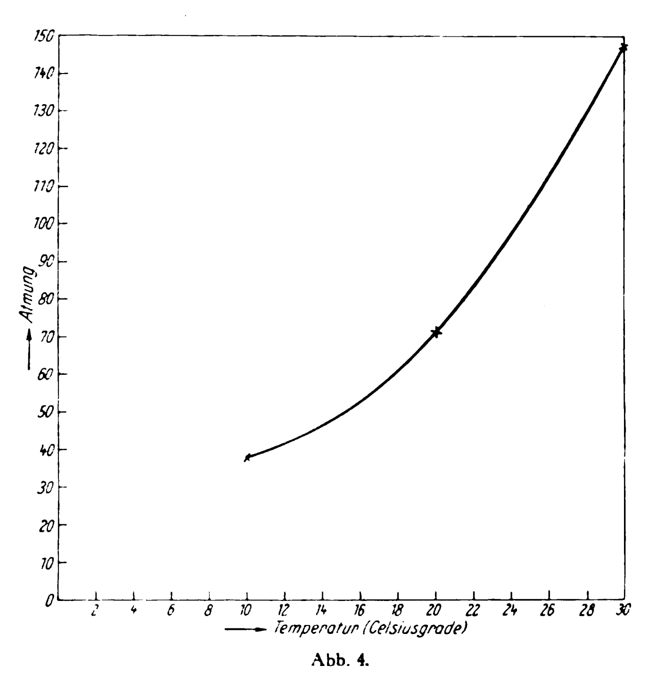


Abb. 4.

Vorbereitende oder fortführende Reaktion.

Fragen wir nach der Bedeutung der *Blackman*schen Reaktion, so liegen von vornherein zwei Möglichkeiten vor: die *Blackman*sche Reaktion kann der photochemischen Reaktion vorangehen oder auf sie folgen, sie kann eine vorbereitende oder eine fortführende Reaktion sein.

Wir nehmen zunächst an[1]), daß sie eine vorbereitende Reaktion ist, in der die Kohlensäure chemisch verändert, etwa verestert oder amidiert wird („Akzeptortheorie"). Dann sollte es möglich sein, der Kohlensäure nahestehende Substanzen zu finden, die in der bestrahlten Zelle unter Entwicklung von Sauerstoff gespalten werden.

[1]) Diese Zeitschr. **103**, 206, 1920.

Zur Prüfung der Theorie bestrahlen wir Chlorella in kohlensäurefreier Salzlösung unter Zusatz von Kohlensäurederivaten, wie Kohlensäureestern, carbaminsauren Salzen, hochoxydierten Carbonsäuren usw., und finden, daß immer reichlich Sauerstoff entwickelt wird. Dieser Sauerstoff jedoch stammt, wie die nähere Untersuchung lehrt, nicht aus den zugesetzten Kohlensäurederivaten, sondern aus dem Nitrat und dem Wasser der Salzlösung.

Die Nitratassimilation.

Bestrahlt man Chlorella in nitrathaltigen Salzlösungen, so wird der Stickstoff des Nitrats unter Entwicklung von molekularem Sauerstoff zu Ammoniak reduziert, nach der Bilanzgleichung

$$HNO_3 + H_2O = NH_3 + 2\,O_2,$$

ein Vorgang, der durch geeignete Maßnahmen so beschleunigt werden kann, daß seine Geschwindigkeit ein Mehrfaches von der Geschwindigkeit der Atmung beträgt.

Der Mechanismus dieses Vorganges ist ein anderer, als es nach der Bilanzgleichung scheint[1]). Zunächst haben wir eine Dunkelreaktion, in der die Salpetersäure mit Kohlenstoff der Zellsubstanz unter Bildung von Kohlensäure reagiert, wobei sie selbst bis zur Stufe des Ammoniaks reduziert wird. Es folgt bei Bestrahlung eine zweite Reaktion, in der der Kohlenstoff der Zellsubstanz unter Entwicklung von Sauerstoff regeneriert wird:

$$\begin{aligned} HNO_3 + H_2O + 2\,C &= NH_3 + 2\,CO_2 \\ 2\,CO_2 &= 2\,C + O_2 \\ \hline HNO_3 + H_2O &= NH_3 + 2\,O_2. \end{aligned}$$

So ist die Nitratassimilation mit einem Kreislauf des Kohlenstoffs verbunden, der über die Oxydationsstufe der Kohlensäure immer zum Kohlenstoff zurückführt, und kleine Mengen Kohlenstoff können beliebig große Mengen Nitrat zu Ammoniak reduzieren.

Die Reaktion zwischen Nitrat und dem Kohlenstoff der Zellsubstanz — die wir durch Verdunkelung von der zweiten Reaktion trennen — wird durch Schwermetallreagenzien spezifisch gehemmt. In n/10000 Blausäure[2]) oder n/10000 Schwefelwasserstoff[3]) ist eine Wirkung des Nitrats auf den Kohlenstoff der Zellsubstanz nicht mehr nachweisbar. Auch hier liegt also eine Schwermetallkatalyse vor. Das Metall — wahrscheinlich Eisen — überträgt den Sauerstoff des Nitrats auf den Kohlenstoff der Zellsubstanz.

---

[1]) Diese Zeitschr. **110**, 66, 1920.
[2]) Ebendaselbst **110**, 81, 1920.
[3]) *E. Negelein*, ebendaselbst **165**, 203, 1925.

Ein einfaches Modell[1]) einer derartigen Übertragung von gebundenem Sauerstoff ist die Oxydation der Oxalsäure durch Jodsäure. Oxalsäure und Jodsäure reagieren in reinen wässerigen Lösungen nicht miteinander. Fügt man aber minimale Mengen Eisensalz hinzu, so wird die Oxalsäure zu Kohlensäure oxydiert, nach der Bilanzgleichung:

$$2\,HJO_3 + 5\,H_2C_2O_4 = 6\,H_2O + 10\,CO_2 + J_2.$$

Diese Reaktion wird, wie die Reaktion zwischen Nitrat und dem Kohlenstoff der Zellsubstanz, durch minimale Mengen Blausäure gehemmt. Blausäure bindet das Eisen und stellt damit den Zustand der Reaktionslosigkeit her, wie er in reinen Jodsäure-Oxalsäurelösungen herrscht.

Willstätters Theorie.

Bei den Versuchen, einen photochemisch reaktionsfähigen Körper zu finden, der nicht Kohlensäure ist, wurde der Weg entdeckt, auf dem die grüne Pflanzenzelle das zum Aufbau ihrer Substanz notwendige Ammoniak gewinnt. Aber auch dieser Weg führt, wie sich gezeigt hat, über die Kohlensäure. So bleibt kein Versuch übrig, der zugunsten der Akzeptortheorie spricht. Wir wollen sie deshalb aufgeben und untersuchen, ob wir mit der Theorie, die *Blackman*sche Reaktion sei eine fortführende Reaktion, weiter kommen.

Die Auffassung, daß die *Blackman*sche Reaktion eine fortführende Reaktion ist, vertreten *Willstätter* und *Stoll*. Nach *Willstätters* Theorie [2]) wird in der photochemischen Reaktion das Hydrat der Kohlensäure in das isomere Formaldehydperoxyd umgelagert, in der *Blackman*schen Reaktion das Formaldehydperoxyd in Formaldehyd und molekularen Sauerstoff gespalten:

$$H_2CO_3 = CH_2O(O_2) \text{ (Photochemische Reaktion)},$$
$$CH_2O(O_2) = CH_2O + O_2 \text{ (\textit{Blackman}sche Reaktion)}.$$

Die *Blackman*sche Reaktion ist hiernach vergleichbar mit der Spaltung von Wasserstoffperoxyd in Wasser und molekularen Sauerstoff, der Katalysator der *Blackman*schen Reaktion gehört zu den „Katalasen".

Vergleich von Wasserstoffperoxydspaltung und Blackmanscher Reaktion.

Um *Willstätters* Theorie zu prüfen, bringen wir in Chlorella Wasserstoffperoxyd, von dem die Alge kleine Konzentrationen ohne wesentliche Schädigung erträgt. Es zeigt sich[3]), daß die Alge Wasserstoffperoxyd in Wasser und Sauerstoff spaltet, wobei aus einer m/300 Wasserstoffperoxydlösung — in einer gegebenen Zeit und von einer gegebenen

[1]) Chem. Ber. **58**, 1010, 1925 (Versuche von *Shigeru Toda*).

[2]) *Willstätter* und *Stoll*, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, S. 241 bis 246. Berlin 1918.

[3]) Diese Zeitschr. **146**, 486, 1924 (mit *T. Ujesugi*).

Algenmenge — im Dunkeln etwa ebensoviel Sauerstoff entwickelt wird, wie bei Bestrahlung in der *Blackman*schen Reaktion. Die peroxydspaltende Wirksamkeit der Alge reicht also aus, um die Geschwindigkeit der *Blackman*schen Reaktion zu erklären.

Weiterhin untersuchen wir, ob die Peroxydspaltung durch Chlorella dieselben besonderen Eigenschaften zeigt wie die *Blackman*sche Reaktion.

Zu den besonderen Eigenschaften der *Blackman*schen Reaktion gehört, daß ihre Geschwindigkeit zwischen 10 und 30° eine lineare Funktion der Temperatur ist. Nach Messungen von *Muneo Yabusoe*[1]) wird die Wasserstoffperoxydspaltung durch die Temperatur nach demselben Gesetz beschleunigt. Auch hier finden wir, daß die Geschwindigkeit zwischen 10 und 30° eine lineare Funktion der Temperatur ist (Abb. 5).

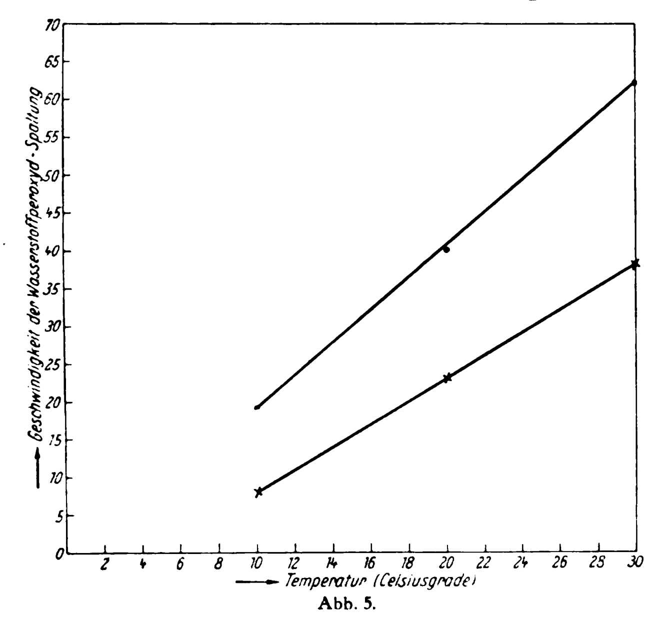


Abb. 5.

Eine zweite besondere Eigenschaft der *Blackman*schen Reaktion ist ihre große Empfindlichkeit gegenüber Blausäure. Ähnlich empfindlich gegenüber Blausäure ist die Wasserstoffperoxydspaltung, die durch 10^{-5} mol. Blausäure deutlich gehemmt wird. Die Hemmungen der Wasserstoffperoxydspaltung bei verschiedenen Blausäurekonzentrationen betragen[2]) bei einer Blausäurekonzentration von

von	$0,5 \cdot 10^{-5}$	Molen/Liter	. . . 32 Proz.
„	$1,0 \cdot 10^{-4}$	„	. . . 83 „
„	$1,0 \cdot 10^{-3}$	„	. . . 93 „

[1]) *Muneo Yabusoe*, diese Zeitschr. **152**, 498, 1924.
[2]) Diese Zeitschr. **146**, 486, 1924 (mit *T. Ujesugi*).

Vergleicht man diese Zahlen mit den für die *Blackman*sche gefundenen Hemmungen, so erkennt man die große Übereinstimmung. Die Übereinstimmung ist um so bemerkenswerter, als zwei andere Vorgänge in Chlorella — die photochemische Reaktion und die Atmung — selbst durch n/100 Blausäure nicht gehemmt werden.

Eine dritte besondere Eigenschaft der *Blackman*schen Reaktion ist ihre Empfindlichkeit gegen Narkotica. Ähnlich empfindlich gegen Narkotica ist die Wasserstoffperoxydspaltung. Dies zeigt Tabelle III, in der die wirksamen Konzentrationen der Urethanreihe verzeichnet sind. Die Wasserstoffperoxydspaltung in Chlorella ist gegen Narkotica erheblich empfindlicher als die Atmung, und ungefähr ebenso empfindlich wie die *Blackman*sche Reaktion.

Tabelle III.

Narkoticum	Hemmung der Atmung um 50 Proz. Millimole/Liter	Hemmung der *Blackman*schen Reaktion um 50 Proz. Millimole/Liter	Hemmung der H_2O_2-Zusetzung um 50 Proz. Millimole/Liter
Methylurethan . .	1200	660	440
Äthylurethan . .	780	225	135
Propylurethan . .	100	73	80
Butylurethan (iso)	43	26	27
Amylurethan (iso)	32	12	9
Phenylurethan . .	6	0,5	weniger als 1,5

Der Vergleich von *Blackman*scher Reaktion und Wasserstoffperoxydspaltung spricht durchaus zugunsten von *Willstätters* Theorie. Nehmen wir diese Theorie als die zurzeit wahrscheinlichste an, so wird auch die Rolle, die das Schwermetall in dem Assimilationsprozeß spielt, verständlich und zurückführbar auf Vorgänge, die sich außerhalb der Zelle abspielen. Denn seit *Thénard* und *Berzelius* ist bekannt, daß Oxyde der schweren Metalle Wasserstoffperoxyd in Wasser und Sauerstoff katalytisch spalten.

Assimilationsproblem.

Trotz der in dieser Übersicht mitgeteilten Versuche und Ergebnisse ist und bleibt der Assimilationsvorgang problematisch, weil es nicht gelingt, Kohlensäure außerhalb der lebenden Zelle zu assimilieren, d. h. Kohlensäure mit den Wellenlängen des sichtbaren Spektrums außerhalb der Zelle zu spalten. Dies beweist, daß uns wesentliche Bedingungen, an die der Lebensvorgang gebunden ist, noch verborgen sind.

Bemerkung zur Arbeit von Kluyver, Donker und Visser 't Hooft: „Über die Bildung von Acetylmethylcarbinol und 2, 3-Butylenglykol"[1]).

Von

A. Lebedew.

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium der 1. Moskauer Universität.)

(Eingegangen am 7. Oktober 1925.)

In der oben genannten interessanten Arbeit haben die Autoren ein Gärungsschema des Methylglyoxals gegeben, das von mir schon längst veröffentlicht wurde[2]):

1. $CH_3COCOH + H_2O = CH_3COCH<^{OH}_{OH}$.
2. $CH_3COCH<^{OH}_{OH} - H_2 = CH_3COCOOH$.
3. $CH_3COCOOH = CH_3COH + CO_2$.
4. $CH_3COH + H_2 = CH_3CH_2OH$.

In meiner Arbeit mit *Polonsky*[3]) haben wir gezeigt, daß bei Hefezuckergärung Aldehyd gleichzeitig nach zwei Richtungen verändert werden kann, erstens infolge der *Cannizaro*schen Umlagerung, zweitens des phytochemischen Hydrierungsprozesses[4]), wobei, abhängig von p_H, die eine oder die andere Reaktion oberhand nimmt.

Es freut mich sehr, daß die Autoren meine Angaben über die „Induktionszeit" bei der Zuckergärung[5]) und über die leichte Vergärbarkeit des Dioxyacetons[6]) durch Mazerationshefensaft völlig bestätigt haben.

---

[1]) Diese Zeitschr. **161**, 361, 1925.

[2]) Bull. Soc. chim. France (4), **11/12**, 1040, 1912.

[3]) Ж. **49**, 93, 328, 1917; Zeitschr. f. physiol. Chem. **132**, 287 bis 290, 1924. (Diese Arbeit wurde von uns am 10. Juni 1916 abgeschlossen.)

[4]) Die phytochemische Hydrierung des Acetaldehyds zum Äthylalkohol wurde zum ersten Male von mir und *Griaznow* (durch Mazerationshefensaft) (Chem. Ber. **45**, 3256, 1912) und von *Kostytscheff* und *Hubbenet* (durch Hefe und Hefepräparate), (diese Zeitschr. **79**, 359, 1912) gezeigt.

[5]) Ann. de l'Inst. Pasteur **26**, 20, 1912.

[6]) C. r. de l'Acad. des Sciences **153**, 136, 1911.

Im Zusammenhang mit ihrem Versuch, Dioxyaceton phytochemisch zu hydrieren, benutze ich die Gelegenheit, um hier über meine letzte Mitteilung, die ich am 17. September am *Mendeleew*schen Kongreß zu Moskau gemacht habe[1]), zu berichten. Ich habe nämlich mit Hilfe der von *Sbarski* und *Michlin*[2]) aus Buttermilch isolierten Oxydoredukase zeigen können, daß Glycerinaldehyd in Anwesenheit von Methylenblau zu einer Oxysäure [Reaktion nach *Berg*[3])], höchstwahrscheinlich Glycerinsäure, oxydiert wird, Dioxyaceton, ebenso wie Glucose dagegen nicht, auch mit Methylglyoxal habe ich vorläufig kein positives Ergebnis erzielt. Der ausführlichere Bericht darüber wird bald erscheinen.

---

[1]) Mitteilungen über die wissenschaftlich-technischen Arbeiten in der Republik (russisch). Autoreferat. Lieferung XX, S. 134. Leningrad 1925.

[2]) Diese Zeitschr. **155**, 485, 1925.

[3]) Bull. Soc. chim. de France (3), **11**, 883.

Über Polysaccharid-spaltung durch Hefe.

Von

Ryuzo Iwatsuru.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Seit langem ist bekannt, daß Inulin in mancher Beziehung die Bedeutung von Stärke und Glykogen besitzt und daß Pilze ein Enzym hervorbringen, das auf das Polysaccharid Inulin eingestellt ist[1]). Von *Lindner* stammen die ersten Angaben über die Vergärbarkeit des Inulins, und *Grafe* hat gezeigt, daß man durch Züchtung von Hefe auf inulinhaltigen Nährmedien eine Spaltung des Polysaccharids erzielen kann. Insbesondere haben *H. Pringsheim* und seine Mitarbeiter in ausführlichen Untersuchungen die Verbreitung von Inulase festgestellt. *Takahashi* hat mitgeteilt, daß auch in der Takadiastase aus Aspergillus oryzae genau so wie in anderen Aspergillusarten ein Inulin angreifendes Enzym vorkommt.

Polysaccharidspaltende Fermente müssen zweifelsohne *in der Hefe* vorhanden sein, wie schon die bekannte Erscheinung der *Selbstgärung* lehrt; sie ist kaum anders zu deuten, als daß in der Hefe präformierte Polysaccharide, das *Glykogen* und eventuell die *Salkowski*sche *Erythrocellulose*, hydrolysiert und dann vergoren werden[2]). *E. Salkowski*[3]) sowie *Harden* und *Young*[4]), die bereits, wie auch *C. Oppenheimer*[5]), von Amylasen der Hefe sprechen, haben früher die Wege gezeigt, wie man durch Ausschluß der eigentlichen Vergärung die Hydrolyse des Polysaccharids zu Zucker verfolgen kann. Es genügt nach *Salkowski* sowie *M. Cremer*[6]), durch Zugabe eines Antiseptikums die Vergärung zu unterdrücken, um den reinen hydrolytischen Abbau beispielsweise des Glykogens und seiner Verwandten zum Zucker zu erzielen, während Hefen-

---

[1]) Literatur siehe bei *C. Oppenheimer*, Fermente I, 742 bis 746, 1925.

[2]) Vgl. hierzu *Grüss*, zitiert bei *Euler*, sowie *H. v. Euler*, H. **89**, 337 und **90**, 355, 1914.

[3]) *E. Salkowski*, H. **13**, 506, 1889; **54**, 398, 1908; **69**, 466, 1910; **92**, 87, 1914; Ber. **27**, 497 und 3325, 1894.

[4]) *A. Harden*, Alkohol. Ferment, 3. Aufl., **1923**, S. 33.

[5]) *C. Oppenheimer*, Ferment I, 713, 1924; siehe auch *H. v. Euler* und *K. Myrbäck*, Svensk Kemisk Tidskrift **1924**, S. 295 und **1925**, S. 174; ferner *H. v. Euler* und *R. Nilsson*, H. **148**, 217, 1925.

[6]) *M. Cremer*, zitiert bei *Oppenheimer*, l. c.

gummi weder durch Gärung noch Autolyse angegriffen wird[1]). Nach *Harden* kann man auch zugesetztes Glykogen zu Zucker hydrolysieren, wenn man mit cozymasearmem Hefepreßsaft arbeitet; dann sammelt sich der durch hydrolytische Zerlegung des Polysaccharids entstehende Zucker an. Natürlich findet dabei völlige Aufspaltung zu Monosaccharid statt, sofern im Falle des Glykogens die Wirkung der Maltase nicht ausgeschaltet wird. Damit völlig in Einklang steht, daß *Buchner* und *Rapp*[2]) Glykogen, lösliche Stärke und Dextrine durch Hefepreßsäfte vergärbar fanden, d. h. unter Bedingungen, die einen Zusammentritt des gesamten Systems von hydrolysierenden und zymatischen Hefefermenten mit den hochmolekularen Substraten ermöglichen. Um weiteres Material zu der Frage der polysaccharidspaltenden Kraft der Hefe zu erbringen, habe ich gärunfähig gemachte Hefenpräparate auf Inulin einwirken lassen.

Dabei ging ich folgendermaßen vor: Acetonhefe, die in üblicher Weise bereitet war, wurde in der 20fachen Menge Wasser suspendiert und bei Zimmertemperatur 2 Stunden lang gerührt. Alsdann wurde zentrifugiert und der Rückstand direkt im Zentrifugenbecher wiederum mit der 20fachen Wassermenge 2 Stunden lang mechanisch durchgerührt. Nach erneuter Zentrifugierung wurden die beiden wässerigen Auszüge vereinigt. Sie enthielten keine wirksame Apozymase, wohl aber ein Agens, das Inulin, wenn auch nicht kräftig, angreift.

Zu diesen Versuchen verwendete ich ein Inulin, das nach den Angaben von *H. Pringsheim* und *G. Kohn*[3]) gereinigt worden war und an sich kaum ein Reduktionsvermögen aufwies. Einer bakteriellen Infektion beugte ich durch Zugabe von Toluol vor. Die im einzelnen nachstehend mitgeteilten Versuche ergaben, daß die Zerlegung hauptsächlich in der ersten Zeit stattfindet und dann nur sehr langsam fortschreitet.

Zur Sicherung der Befunde wurde der abgespaltene Zucker durch Darstellung des Methyl-phenylosazons als Fructose identifiziert, nachdem sorgfältig durch Eindampfen und Ausfällen mit Alkohol unverändertes Inulin oder höhere Spaltungsprodukte desselben entfernt worden waren. Bei der Überführung in das Methyl-phenylosazon braucht nur ganz kurze Zeit (3 bis 5 Minuten) erwärmt zu werden, sodaß die spaltende Kraft der Essigsäure sich nicht geltend macht, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Bereitung des gewöhnlichen Phenylosazons, die längeres Kochen erfordert und daher im vorliegenden Falle unbrauchbar ist.

[1]) *E. Salkowski*, H. **13**, 506, 1889; **54**, 398, 1908; **69**, 466, 1910; **92**, 87, 1914; Ber. **27**, 497 und 3325, 1894.

[2]) *E. Buchner* und *R. Rapp*, Ber. **31**, 214 und 1091, 1898; **32**, 2090, 1899.

[3]) *H. Pringsheim* und *G. Kohn*, H. **133**, 83, 1924.

Versuch I.

50 g Acetonhefe (aus Berliner Verbandshefe) wurden in der erwähnten Art mit 1000 ccm Wasser ausgezogen; der Extrakt wurde abzentrifugiert. Entsprechend verfuhr ich auch, wenn größere Mengen des Hefematerials verarbeitet wurden.

Ansätze.

1. 10,0 g reines Inulin, gelöst in 50,0 ccm H_2O, 250,0 ccm Hefenextrakt, 3,0 ccm Toluol.
2. 200,0 ccm Hefenextrakt, 2,0 ccm Toluol.
3. 5,0 g Inulin, 150,0 ccm H_2O, 1,5 ccm Toluol.

Alle Ansätze kamen in den Brutschrank bei 38°. Zu den angegebenen Zeiten wurde in abgezogenen Proben der Gehalt an reduzierendem Zucker nach *Kumagawa-Suto* ermittelt; die angeführten Zahlen sind mit dem Glucosefaktor berechnet.

Tabelle I.

	Zeitdauer in Stunden:									
	42	116	136	184	234	280	328	400	448	544
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Inulinlösung	0,244	0,526	0,555	0,645	0,650	0,675	0,688	0,690	0,692	0,690
Wäss. Extr. (allein)	0,238	0,213	0,213	0,223	0,218	0,218	0,220	—	0,218	—
Inulin (allein)	0,018	—	—	—	—	0,019	—	—	—	0,019

Versuch II.

Ansätze.

1. 6,0 g Inulin, gelöst in 50,0 ccm H_2O, 450,0 ccm Hefenextrakt, 5,0 ccm Toluol.
2. 30,0 ccm H_2O, 270,0 ccm Hefenextrakt, 3,0 ccm Toluol.
3. 6,0 g Inulin, 500,0 ccm H_2O, 5,0 ccm Toluol.

Tabelle II.

	Zeitdauer in Stunden:								
	20	24	64	114	138	162	234	282	330
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Hauptversuch	0,208	0,250	0,283	0,285	0,287	0,285	0,300	0,301	0,301
Wäss. Extr. (allein)	0,042	0,041	0,040	0,040	0,040	—	0,041	0,044	—
Inulin (allein)	0,016	—	—	0,018	—	—	—	0,016	—

Versuch III.

Ansätze.

1. 5,0 g Inulin, gelöst in 30,0 ccm H_2O, 270,0 ccm Hefenextrakt, 3,0 ccm Toluol.
2. 22,0 ccm H_2O, 198,0 ccm Hefenextrakt, 2.2 ccm Toluol.
3. 3,0 g Inulin, 300,0 ccm H_2O, 3,0 ccm Toluol.

Tabelle III.

	Zeitdauer in Stunden:				
	20	68	116	164	212
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Inulinlösung	0,337	0,404	0,435	0,430	0,435
Wässeriger Extrakt (allein)	0,121	0,121	0,120	0,121	0,124
Inulin (allein)	0,017	—	0,017	—	—

Versuch IV.

Ansätze.

1. 11,0 g Inulin, 550,0 ccm Hefenextrakt, 5,5 ccm Toluol.
2. 550,0 ccm Hefenextrakt, 5,5 ccm Toluol.

	Anfangs Proz.	Nach 324 Stdn. Proz.
Hauptversuch	0,101	0,365
Kontrollversuch	0,090	0,075

Die Flüssigkeit des Hauptversuchs wurde im *Faust-Heim*schen Apparat auf 30 ccm bei Zimmertemperatur eingeengt und mit 400 ccm absoluten Alkohols extrahiert. Der Rückstand wurde so oft mit Alkohol ausgezogen, als noch reduzierende Substanz in Lösung ging. Drei Extraktionen waren dazu erforderlich. Die alkoholischen Auszüge wurden vereinigt und im Vakuum eingedunstet. Der hinterbliebene Sirup wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht. Dieser Auszug wurde wiederum konzentriert und von neuem mit Alkohol aufgenommen. Diese Behandlung wurde viermal fortgesetzt, bis ein in Alkohol glatt lösliches Produkt vorlag.

Nach Verdunstung des Weingeistes wurde aus dem restierenden Zucker in bekannter Weise das Methyl-phenylosazon dargestellt. Bei 5 Minuten langem Erwärmen trübte sich die Flüssigkeit unter Bildung eines Öles, das beim Stehen im Eisschrank nach 24 Stunden in eine Kristallmasse verwandelt war. Nach dem Absaugen und Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol erhielt ich das Methyl-phenylosazon in den typischen gelbroten Nadeln vom Schmelzpunkt 151°.

Bei genau gleicher Behandlung wurden aus der Flüssigkeit des Kontrollversuchs zwar Spuren einer reduzierenden Substanz erhalten, diese lieferten jedoch kein Methyl-phenylosazon.

Die Ausbeute im Hauptversuch betrug 0,475 g an Methyl-phenylosazon. Diese Menge würde 0,22 g Fruchtzucker entsprechen; nach der Reduktionskraft wäre aber ein sehr viel höherer Ertrag zu erwarten gewesen. Es muß daher weiteren Untersuchungen die Feststellung vorbehalten bleiben, ob nicht auch reduzierende Zwischenprodukte, die Inulide von *J. Wolff* und *B. Geslin*[1]), in der ursprünglichen Lösung vorhanden sind; denn der Abbau des Inulins vollzieht sich — genau wie amylolytische Spaltung der Stärke und des Glykogens — über verschiedene Zwischenstufen, die den Dextrinen und der Maltose vergleichbar erscheinen. Meine Ergebnisse stehen, wohl auch hinsichtlich der Wirkungsstärke, durchaus in Übereinstimmung mit den Befunden von *Pringsheim* und *Kohn* über die enzymatische Hydrolyse von Inulid durch „Hefeninvertase". Es ist zugleich nicht auszuschließen, daß die schwache Acidität meiner Hefenextrakte hinreicht, die erste Dessoziation des Inulins zu Inulid herbeizuführen, wodurch nach den erwähnten Autoren der enzymatische Angriff erleichtert wird; auch *Karrer, Straub* und *Wälti*[2]) betonen die leichte Angreifbarkeit des Inulins.

---

[1]) *J. Wolff* und *B. Geslin*, Chem. Centralbl. **1918**, I, 275; **1918**, II, 637; die Autoren weisen auf die gute Vergärbarkeit durch die meisten Hefenrassen hin und schließen auf die Verbreitung entsprechender Diastasen bei den Hefepilzen.

[2]) *P. Karrer, M. Straub* und *A. Wälti*, Helv. chim. act. 5, 129, 1922.

Über den Einfluß von Acetonitril auf die elektroendosmotische Flüssigkeitsbewegung.

Von

O. Arnd.

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

(Eingegangen am 19. Oktober 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

I.

Nachdem durch die grundlegenden Versuche von *Wiedemann* und *Quincke* die wichtigsten Bedingungen der Elektroendosmose experimentell festgelegt worden waren und nachdem die Theorie durch *Helmholtz* auch zu einer quantitativen Formulierung gelangt war, hat besonders *J. Perrin* (1) das Problem der elektroendosmotischen Wasserüberführung gefördert. Auf Grund seiner Versuche hat sich dann die Vorstellung gebildet, daß die elektrischen Doppelschichten an den Phasengrenzflächen durch Schichten adsorbierter freier Ionen, besonders H^+ und OH^-, repräsentiert werden. Dieser Gedanke hat sich in der Folge als sehr fruchtbar erwiesen, indem er zu weitreichenden Vorstellungen über die Konstitution der Doppelschichten und über die Natur des bei der Elektroendosmose wirksamen Potentialgefälles führte. *Bancroft* (2), *H. Freundlich* (3) (4) und auch *Gyemant* (5) führten die Ladungen der Membranen und Diaphragmen auf die relative Adsorption von Kationen oder Anionen zurück. *M. v. Smoluchowski* (6) hat die Theorie erweitert, die Bedeutung der Dielektrizitätskonstanten hervorgehoben und vom Potentialgefälle zwischen fester Wand und bewegter Flüssigkeit das bei der Elektroendosmose allein in Frage kommende elektrokinetische Potential (*Freundlich*) abgespalten. Man denkt sich heute an der Wand eine in der Flüssigkeit befindliche Ionenatmosphäre, die durchschnittlich mehr negativ geladene Ionen enthält und unbeweglich ist. In die bewegte Flüssigkeit hinein erstreckt sich eine räumliche Schicht vorwiegend positiv geladener Ionen. Das elektrokinetische Potential ist nun das Potential einer derartigen diffusen Doppelschicht (*Gouy*). In neuerer Zeit hat *J. W. Mc Bain* (7) die Vorstellung von der Konstitution der Doppelschichten modifiziert.

indem er sich die Ionen der Doppelschichten relativ unbeweglich denkt und im Gegensatz zu früheren Ansichten nur wenige, gleichmäßig verteilte, frei bewegliche Ionen zuläßt.

Die Ionenlehre hat die Untersuchungen über die Elektroendosmose und die Theorie der Doppelschichten entscheidend beeinflußt. In der einschlägigen Literatur findet sich ein riesiges Zahlenmaterial über die Wirkung der verschiedenen Salze auf die elektroendosmotische Wasserüberführung; über den Einfluß der Nichtelektrolyte aber sind wir äußerst spärlich unterrichtet. Quantitative Versuche sind bis heute nicht angestellt worden. *Quincke* (8) hatte schon beobachtet, daß eine bestimmte Alkohol—Wassermischung beim Elektroendosmoseversuch zur Anode wandert. Fügte er Wasser hinzu, so beobachtete er eine Verminderung des Flusses, die Richtung blieb anodisch. Später hat *Quincke* die Wasserzusätze vergrößert und gelangte so zu einer Alkohol-Wassermischung, die nun kathodisch wanderte. *Perrin* (1) fand bei Flüssigkeiten, deren Dielektrizitätskonstante kleiner als 5 ist, wie z. B. bei Chloroform, Äther, Petrol, Benzin usw., keine Elektroendosmose, dagegen beobachtete er eine beträchtliche Elektroendosmose bei Flüssigkeiten, deren Dielektrizitätskonstante größer als 20 ist, z. B. bei Alkohol, Aceton, Nitrobenzol, Wasser usw.

Nach der Theorie der Doppelschichten gilt für die elektroendosmotische Wanderungsgeschwindigkeit [vgl. *H. Freundlich* (9)] einer Flüssigkeit:

$$u = \frac{\zeta \cdot H \cdot D}{4\pi \cdot \eta}, \qquad (1)$$

wobei u = Geschwindigkeit,
ζ = elektrokinetisches Potential,
H = das äußere Potentialgefälle,
D = Dielektrizitätskonstante,
η = Viskosität,
π = 3,14 . . .

Mit anderen Worten, alles andere gleichgesetzt, läßt die Theorie erwarten, 1. daß mit Abnahme der Dielektrizitätskonstanten die Wanderungsgeschwindigkeit sinkt, 2. daß durch Zusatz eines Nichtelektrolyten auch ζ, das elektrokinetische Potential, verändert werde.

Es sind in unserem Institut schon seit längerer Zeit Untersuchungen über den Einfluß von Nichtelektrolyten auf die Ionenwirkungen im Gange. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die dielektrischen Verhältnisse bei allen diesen Vorgängen eine nicht unbedeutende Rolle spielen (10). In Zusammenhang mit Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Zellen haben wir die Frage studiert, in welcher Weise

das elektrokinetische Potential durch Nichtelektrolyte beeinflußt wird. Als Repräsentant eines Nichtelektrolyten diente uns das Acetonitril.

Nicht nur die älteren Versuche von *Quincke* und *Perrin* ließen einen solchen Einfluß vermuten, sondern auch neue Untersuchungen über Strömungspotentiale zeigten eine deutliche Beeinflußbarkeit des ζ-Potentials durch Nichtelektrolyte. Schon vor längerer Zeit haben *H. Freundlich* und *P. Rona* (11) auf den Einfluß von kapillaraktiven Nichtelektrolyten auf das elektrokinetische Potential kolloider Teilchen hingewiesen. *H. R. Kruyt* (12) fand 1918, daß die Strömungspotentiale von wässerigen KCl- und $BaCl_2$-Lösungen durch Phenol vermindert werden. *A. Gyemant* (13) beobachtete bei der Kataphorese von Wasseremulsionen in Anilin, Guajacol und Benzonitril in Gegenwart von anorganischen Elektrolyten auffallend geringe Wanderungsgeschwindigkeiten. *A. Strickler* und *J. H. Mathews* (14) haben die Elektroendosmose einiger organischer Lösungen untersucht. Bei Salzzusätzen fanden sie starke Unregelmäßigkeiten. Immerhin geht aus ihren Versuchen mit Sicherheit hervor, daß bei einem Wassergehalt zwischen 90 und 100 Proz. die Elektroendosmose für Aceton mit $NaNO_3$ und für Isopropylalkohol mit KCNS mit zunehmendem Nichtelektrolytgehalt abnimmt.

Faßt man die bis dahin vorliegenden Versuche zusammen, so erscheint der Einfluß der Nichtelektrolyte auf das elektrokinetische Potential als gesichert. Welcher Art aber dieser Einfluß ist, ist noch vollkommen unklar. Bekanntlich hat Isopropylalkohol eine Dielektrizitätskonstante von 26, Aceton eine solche von 21. Beide Stoffe sind kapillaraktiv und haben ein gutes Adsorptionsvermögen. Trotzdem beobachtet man (14) in 0 bis 10proz. wässerigen Lösungen, daß Aceton die Elektroendosmose kaum beeinflußt, Isopropylalkohol aber die Elektroendosmose des Wassers um etwa 10 Proz. vermindert.

Allgemein müssen wir deshalb annehmen, daß der Einfluß der Nichtelektrolyte auf das ζ-Potential ein konstitutiver ist, mit anderen Worten, die Größe der Dielektrizitätskonstante des Nichtelektrolyten ist nicht allein maßgebend für die Änderung des ζ-Potentials.

Stellen wir das ζ-Potential als Funktion des Nichtelektrolytgehaltes c dar,

$$\zeta = \varphi(c) \tag{2}$$

so ist offenbar φ eine Funktion, die sich in homologen Reihen gesetzmäßig ändert.

Es soll im folgenden zunächst über Versuche am Acetonitril-Wassermodell berichtet werden.

II.

Bei den Elektroendosmoseversuchen verwandten wir den Apparat von *Gyemant* und *Bartsch* (vgl. Abb. 1).

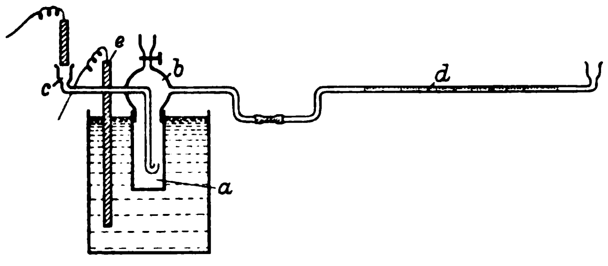


Abb. 1.

Das Gefäß *a*, die Zelle, hat einen durchlochten Glasboden von 4,91 qcm Flächeninhalt; durch einen Glasschliff wird *b* aufgesetzt; das Rohr *c* ist mit gesättigtem KCl-Agar gefüllt und führt zur inneren Elektrode; *d* ist ein Kapillarrohr, an welchem die Flüssigkeitsverschiebungen abgelesen werden. Die Einteilung gestattet eine Ablesung auf 0,001 ccm genau. *E* ist die äußere Elektrode. Es wurde stets bei einer Temperatur von 20^0 mit einer äußeren Spannung von 220 Volt gearbeitet und die Stromstärke durch einen geeigneten Flüssigkeitswiderstand dauernd auf 0,002 Ampère reguliert. Als Diaphragma verwendeten wir nur 7 proz. Eisessig-Kollodium-Filtrierpapiermembranen (*Kahlbaum*). Die relative Viskosität wurde in einem *Ostwald*schen Viskosimeter bestimmt; die Dichte der Lösungen mit einer *Mohr-Westphal*schen Wage gemessen, die eine Genauigkeit auf vier Stellen nach dem Komma gestattet.

Zur Untersuchung gelangten reine m/1000 KCl-Lösungen (*Kahlbaum*) von wechselndem Nitrilgehalt. Nach einer Arbeit von *H. Remy* (15) kommt eine elektrolytische Wasserüberführung bei einer Konzentration von m/1000 KCl nicht mehr in Betracht. Die von uns gemessenen Werte sind demnach rein elektroendosmotische Verschiebungen. Das verwendete Acetonitril war ein Kahlbaumpräparat.

Die elektroendosmotische Flüssigkeitsbewegung wurde nun unter den so fixierten Bedingungen derart gemessen, daß man mit einer $^1/_5$-Sekunden-Stoppuhr die Zeit bestimmte, in der eine Flüssigkeitsmenge von 0,05 ccm durch die Membran trat, und zwar abwechselnd, vermittelst eines Stromwenders, von innen nach außen und von außen nach innen. Solange die Membran nicht gleichmäßig von der Lösung durchtränkt ist, sind die Durchtrittszeiten nicht konstant. Um dies zu erreichen, ist es notwendig, die Lösung vor jedem Versuch 20- bis 30 mal in beiden Richtungen durch die Membran hindurchzuschicken. Auf diese Weise werden die Messungen genügend genau.

Die mittlere Schwankung eines einzelnen Flüssigkeitsdurchtritts war

$$\pm \sqrt{\frac{\Sigma \Delta^2}{n-1}} = 3{,}9 \text{ Sekunden}$$

und die mittlere Schwankung des Mittels ergab nur

$$\pm \sqrt{\frac{\Sigma \Delta^2}{n(n-1)}} = 0{,}8 \text{ Sekunden.}$$

Jede von uns angegebene Zahl bezieht sich auf 11 bis 23 Messungen in jeder Richtung, deren Streuung die oben angegebene Genauigkeit nie überschritt.

Es hat sich nun bei unseren Versuchen herausgestellt, daß man unter Einhaltung obiger Bedingungen bei Verwendung ein und derselben Membran immer gut vergleichbare und beliebig oft reproduzierbare Werte erhält, daß aber bei Verwendung einer neuen Eisessig-Kollodiummembran die Werte je nach der Membran verschoben sind, ihr gegenseitiges Verhältnis aber unverändert bleibt.

Zweitens zeigte sich ein Unterschied in der elektroendosmotischen Wanderungsgeschwindigkeit, je nachdem die Flüssigkeit aus der Zelle heraus in die Außenflüssigkeit sich bewegte oder umgekehrt. Hydrostatische Druckdifferenzen, osmotische Unterschiede oder Temperaturgefälle konnten die Erscheinung nicht erklären. Man muß deshalb annehmen, daß die Eisessig-Kollodium-Filtrierpapiermembran eine gewisse gerichtete Polarisation aufweist, und tatsächlich ergab die Messung z. B. ein Membranpotential von 52 Millivolt, und zwar derart, daß die Innenwand der Zelle eine negative und die Außenwand eine positive Belegung zeigte. Da die Flüssigkeit stets kathodisch wandert, muß die Durchtrittsgeschwindigkeit in das Innere des Gefäßes größer sein als von innen nach außen, was auch bei unseren Versuchen tatsächlich stets der Fall war.

Um nun trotz dieser Schwierigkeiten zu vergleichbaren Resultaten zu gelangen, haben wir für jede neue Membran eine Nullkurve mit m/1000 KCl angelegt.

Bezieht man jetzt die erhaltenen Nitrilwerte auf die zugehörige KCl-Nullkurve, so sind die mit verschiedenen Eisessig-Kollodiummembranen erhaltenen Werte unter sich direkt vergleichbar. Um die Darstellung noch weiter zu vereinfachen, haben wir auf eine Wiedergabe in absoluten Werten verzichtet und beziehen uns stets auf m/1000 KCl als Einheit. Auch die Viskositäten beziehen sich auf unsere m/1000 KCl-Lösung als Einheit. Ihre absolute Viskosität ist bei 20° C $1045 \cdot 10^8$. Wir heben aber nochmals hervor, da alles andere bei den Versuchen konstant gehalten wurde, die gegebenen Zahlen sich von den absoluten Werten nur durch eine multiplikative Konstante unterscheiden.

III.

Da bei den Versuchen mit konstantem Strom und Potentialgefälle gearbeitet wurde, vereinfacht sich Formel (1) zu:

$$u = K \frac{\zeta \cdot D}{\eta}. \tag{3}$$

Wenn v das elektroendosmotisch übergeführte Flüssigkeitsvolumen in der Zeit t bedeutet und η die relative m/1000 KCl-Viskosität, so ergeben unsere Versuche zunächst:

$$u \cdot \eta = \frac{v \cdot \eta}{t} \cdot \frac{1}{K} = \zeta \cdot D, \tag{4}$$

bezogen auf m/1000 KCl als Einheit in Abhängigkeit von der Nitrilkonzentration. Wir brauchen also die so direkt erhaltenen Werte nur noch durch die Dielektrizitätskonstante der jeweiligen Mischung zu dividieren und erhalten so das ζ-Potential als Funktion des Nichtelektrolytgehaltes, allerdings bezogen auf rein wässerige m/1000 KCl-Lösung als Einheit.

Wir setzen zu diesem Zwecke:

$$D_M = \frac{n_1 D_1 + n_2 D_2}{n_1 + n_2}, \tag{5}$$

wobei n_1, n_2 Molzahlen bedeuten. Eine Annahme, die, da es sich um relativ verdünnte Lösungen handelt, in *erster Näherung* richtig ist. Vermittelst Gleichung (4) und (5) gelingt jetzt in erster Näherung die Darstellung der Beziehung (2):

$$\zeta = \varphi(c).$$

Tabelle I enthält die Dichten, die relativen Viskositäten bezogen auf m/1000 KCl als Einheit und die Durchtrittszeiten in Sekunden für ein Flüssigkeitsvolumen von 0,05 ccm, i bedeutet die Wanderungsrichtung der Flüssigkeit vom äußeren Gefäß in das Innere der Zelle und a die umgekehrte Richtung.

Tabelle I.

Konzentrationen	m/1000 KCl	m/16 CH_3CN in m/1000 KCl	m/8 CH_3CN in m/1000 KCl	m/4 CH_3CN in m/1000 KCl	m/2 CH_3CN in m/1000 KCl	m/1 CH_3CN in m/1000 KCl	2m. CH_3CN in m/1000 KCl
Dichte	0,9986	0,9989	0,9987	0,9977	0,9969	0,9942	0,9887
rel. KCl m/1000 Viscosität	1,0000	1,0123	1,0233	1,0245	1,0429	1,0582	1,0914
t „ i	123,5	162,5	185,2	170,1	—	179,3	—
t „ a	139,5	225,4	287,9	289,9	—	284,4	—

Dabei befindet sich im äußeren wie im inneren Gefäß dieselbe Konzentration an Elektrolyt und Nichtelektrolyt.

Setzt man nun für die Dielektrizitätskonstante des reinen flüssigen Acetonitrils 35,8, so liefert Formel (5) folgende Werte (Tabelle II):

Tabelle II.

Konzentrationen	m/1000 KCl	m/16	m/8	m/4	m/2	m/1	2 m
D.-K.	80,0	79,8	79,5	79,2	78,9	78,0	76,5

Trägt man diese Werte in Formel (4) ein, so erhält man aus Tabelle I ζ in Abhängigkeit vom Nichtelektrolytgehalt.

Setzt man ferner die elektroendosmotische Wasserbewegung in m/1000 KCl = 100, so erhält man die prozentuale Depression des ζ-Potentials als Funktion des Nichtelektrolytgehaltes (vgl. Tabelle III und Abb. 2). *K* ist eine Konstante (s. oben).

Tabelle III.

Konzentrationen	m/1000 KCl	m/16 CH_3CN in m/1000 KCl	m/8 CH_3CN in m/1000 KCl	m/4 CH_3CN in m/1000 KCl	m/1 CH_3CN in m/1000 KCl
K . ζ (*i*)	50,6	38,9	34,7	38,0	37,1
K . ζ (*a*)	44,8	28,1	22,3	22,3	23,4
Prozent (*i*)	100	76,9	68,6	75,1	73,2
„ (*a*)	100	62,7	49,8	49,8	52,2

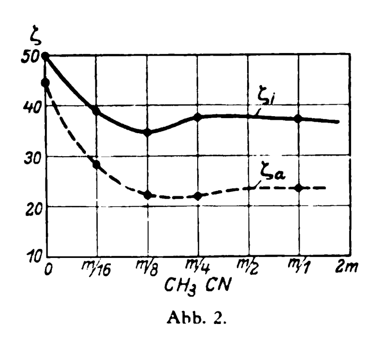


Abb. 2.

Als Modellversuche für biologische Verhältnisse haben wir auch Versuche angestellt, in denen der Nichtelektrolyt, aufgelöst in m/1000 KCl, nur im Innern der Zelle vorhanden war, während das Außengefäß reine m/1000 KCl-Lösung enthielt. Eine genaue quantitative Analyse ist aber vorläufig infolge der komplizierten dielektrischen Verhältnisse nicht möglich; zudem überlagern sich bei diesen Versuchen noch in schwer übersehbarer Weise osmotische Druckdifferenzen, Diffusionsströme und elektroendosmotische Wasserbewegung. Wir begnügen uns damit [vgl. Formel (3)], das Produkt $u \, . \, \eta$ als Funktion des variierenden Nichtelektrolytgehaltes im Innern der Zelle wiederzugeben (vgl. Tabelle IV).

Tabelle IV.

Konzentration im Außengefäß m/1000 KCl.

Konzentration im inneren Gefäß	m/1000 KCl	m/16 CH_3CN in m/1000 KCl	m/8 CH_3CN in m/1000 KCl	m/4 CH_3CN in m/1000 KCl	m/2 CH_3CN in m/1000 KCl	m/1 CH_3CN in m/1000 KCl	2 m. CH_3CN in m/1000 KCl
$u \cdot \eta (i)$	3,8	3,5	3,6	3,3	—	—	3,1
$u \cdot \eta (a)$	2,8	2,9	3,0	3,3	3,1	2,6	2,1

IV.

Aus den vorliegenden Versuchen ergibt sich, daß das Acetonitril das elektrokinetische Potential ζ in eindeutiger Weise beeinflußt. Wir bemerken schon bei geringer Konzentration einen starken Abfall, bis 40 Proz. bei einer Acetonitrilkonzentration von m/16. Mit zunehmender Konzentration an Acetonitril wird der Abfall geringer und scheint einem gewissen Grenzwert zuzustreben. Dieser ganze Verlauf des ζ-Potentials als Funktion des Nichtelektrolytgehaltes scheint nichts anderes als eine *inverse Adsorptionskurve* darzustellen. Und in der Tat sprechen alle Erfahrungen dafür, und theoretisch wäre ein Einfluß eines Nichtelektrolyten auf das Grenzflächenpotential ohne Anreicherung in der betreffenden Grenzfläche nicht vorstellbar. Durch die Arbeiten von *J. Langmuir* (16) (17) und *L. Gurwitsch* (18) hat sich immer deutlicher gezeigt, daß die Adsorption nicht als rein physikalischer Vorgang aufgefaßt werden darf. Insbesondere haben die Untersuchungen über die gerichtete Adsorption ergeben, daß bei der Adsorption molekulare Kraftfelder ins Spiel treten, die auf spezifischen Atomgruppierungen in der Oberfläche beruhen, mit anderen Worten, wir nähern uns der Auffassung, in der Adsorbierbarkeit eine gewisse konstitutive Komponente zu erblicken. Damit haben wir die Grundlagen gewonnen für das Verständnis der völlig verschiedenen Abhängigkeit des ζ-Potentials von den einzelnen Nichtelektrolyten (vgl. S. 416).

Vorliegende Untersuchung ist auch biologisch von gewissem Interesse. Es ist schon lange aufgefallen, daß die Flüssigkeitsbewegung in den Organismen, handle es sich nun um Sekretionsprozesse, um Resorptionen oder um inter- und intrazelluläre Flüssigkeitsbewegungen, nicht selten besonderen Gesetzen zu folgen scheint. Als flüssigkeitsbewegende Kräfte kommen biologisch in Frage die Diffusion, die Filtration, die Osmose und die Elektroendosmose. Im realen Falle handelt es sich stets um ineinandergreifende Prozesse. Überall da aber, wo wir Flüssigkeitswanderungen gegen das osmotische Gefälle und gegen den Diffusionsdruck haben, und dies ist bei fast allen Drüsentätigkeiten der Fall, spielt offenbar die Filtration und die Elektroendosmose eine

nicht zu unterschätzende Rolle. Schon *Bernstein* (19) hat auf die Bedeutung der Elektroendosmose im organisierten Geschehen hingewiesen. Eine kritische Zusammenfassung über die kapillarelektrischen Vorgänge in der lebenden Zelle gibt *Nathansohn* (20). Auch *Loeb* (21) und *Keller* (22) haben neuerdings darauf hingewiesen, daß die elektroendosmotische Wasserbewegung im Organismus nicht zu vernachlässigen ist.

Die Bedeutung der Membran für die Entstehung von Potentialdifferenzen im Organismus ist von *H. Freundlich* (3), speziell die Bedeutung der Lipoidmembran ist durch die Untersuchungen von *J. Loeb* und *R. Beutner* (23) dargetan worden.

Fassen wir unsere eigenen Versuche ins Auge, so ergibt sich in Zusammenhang mit den Untersuchungen anderer Autoren:

Der Wasserhaushalt der Zelle wird, insofern er von den elektroendosmotischen Verhältnissen abhängt, reguliert:

1. durch Variation des Membrangefüges,
2. durch Variation des Nichtelektrolytgehaltes des an die Membran angrenzenden Lösungsmittels.

Die Versuche der Tabelle IV lassen deutlich erkennen, daß unter Umständen die Vermehrung bestimmter Nichtelektrolyte in der Zellflüssigkeit regulatorisch in den Wasseraustausch der Zellen eingreifen kann und den Wasserverlust der Zelle verhindern, indem die elektroendosmotische Flüssigkeitsbewegung durch die Senkung des ζ-Potentials hintangehalten wird. Auch *Loeb* und *Beutner* (24) haben gefunden, daß durch Alkohol und Chloroform die Potentialdifferenz an der Grenze zwischen lebenden Organen und wässerigen Lösungen vermindert wird, Harnstoff aber eine Erhöhung der Potentialdifferenz bewirkt, was auf Grund des dielektrischen Verhaltens wässeriger Harnstofflösungen nach den Untersuchungen von *R. Fürth* (25) leicht verständlich ist.

V.

Vorliegende Untersuchung ergibt:

1. Es gelingt, mit Hilfe der Theorie der Doppelschichten eine Abhängigkeit des elektrokinetischen Potentials von dem Nichtelektrolytgehalt der Lösung nachzuweisen. Es zeigt sich speziell bei Acetonitril, daß beim geringen Acetonitrilgehalt eine relativ starke Senkung des ζ-Potentials eintritt, während bei höherem Acetonitrilgehalt (1 bis 2 Mol) das Potential einem gewissen Grenzwert zuzustreben scheint.

2. Für die Änderung des ζ-Potentials ist nicht allein die Größe der Dielektrizitätskonstante des Nichtelektrolyten, sondern auch seine chemische Konstitution und seine Adsorbierbarkeit von Bedeutung.

Der Verlauf des ζ-Potentials als Funktion des Nitrilgehaltes kann als inverse Adsorptionskurve gedeutet werden.

3. Die Ergebnisse weisen auch darauf hin, daß den flüssigen Nichtelektrolyten im Zellinhalt eine regulatorische Funktion im Wasserstoffwechsel zukommt.

Literatur.

1) *J. Perrin*, Mécanisme de l'électrisation de contact et solutions colloidales. Journ. de Chimie physique **2**, 601, 1904; **3**, 50, 1905. — 2) *Bancroft*, Journ. of physical. Chem. **16**, 312, 1912. — 3) *H. Freundlich*, Über abnorme Osmosen. Kolloid-Zeitschr. **18**, 11, 1916. — 4) *Derselbe*, Über den Potentialsprung, der bei der Elektroosmose und verwandten Erscheinungen wirksam ist. Ebendaselbst **28**, 240, 1921. — 5) *A. Gyemant*, Elektroendosmose und Ionenadsorption. Ebendaselbst **28**, 103, 1921. — 6) *M. v. Smoluchowski*, Elektrische Endosmose und Strömungsströme. Grätz Handb. d. Elektr. **2**, 366, 1912. — 7) *J. W. Mc'Bain*, The conception and properties of the electrical double layer and its relation to jonic migration. Journ. of phys. Chem. **28**, 706, 1924. — 8) *Quincke*, Poggendorfs Ann. **107**, 1; **110**, 38; **113**, 513. — 9) *H. Freundlich*, Kapillarchemie 1922. — 10) *E. A. Hafner*, Biologie und Dielektrizitätskonstante. Ergebn. d. Physiol. **24**, 566, 1925. — 11) *H. Freundlich* und *P. Rona*, Über die Sensibilisierung der Ausflockung von Suspensionskolloiden durch kapillaraktive Nichtelektrolyte. Diese Zeitschr. **81**, 87, 1917. — 12) *H. R. Kruyt*, Strömungspotentiale und Kolloidstabilität. Kolloid-Zeitschr. **22**, 81, 1918. — 13) *A. Gyemant*, Die Kataphorese von Wasser in organischen Flüssigkeiten. Zeitschr. f. physik. Chem. **102**, 74, 1922. — 14) *A. Strickler* und *J. H. Mathews*, Studies in electricendosmose. Journ. Amer. Chem. Soc. **44**, 1647, 1922. — 15) *H. Remy*, Elektroendosmose und elektrolytische Wasserüberführung. Zeitschr. f. Elektrochem. **29**, 365, 1923. — 16) *J. Langmuir*, The constitution and fundamental properties of solids and liquids I. Journ. of Amer. Chem. Soc. **38**, 2221, 1917. — 17) *Derselbe*, The adsorption of gazes on plane surfaces of glass, mica and platinum. Ebendaselbst **40**, 1361, 1918. — 18) *L. Gurwitsch*, Zur Theorie der Adsorption, Kolloid-Zeitschr. **32**, 80, 1923. — 19) *J. Bernstein*, Elektrobiologie 1912. Lit.! — 20) *A. Nathansohn*, Über Kapillarelektrische Vorgänge in den lebenden Zellen. Kolloidchem. Beih. **11**, 261, 1919. — 21) *J. Loeb*, Proteins and the theory of colloidal behavior, 1922. — 22) *R. Keller*, Die Elektrizität in der Zelle 1918. — 23) *J. Loeb* und *R. Beutner*, Die Bedeutung der Lipoide für die Entstehung der bioelektrischen Potentialdifferenzen bei gewissen pflanzlichen Organen. Diese Zeitschr. **51**, 288, 1913. — 24) *Dieselben*, Einfluß von Anästhetika auf die Potentialdifferenz an der Oberfläche pflanzlicher und tierischer Gewebe. Ebendaselbst **51**, 300, 1913. — 25) *R. Fürth*, Dielektrizitätskonstanten einiger wässeriger Lösungen und ihre Deutung nach der Dipoltheorie von *Debye*. Ann. d. Physik **70**, 63, 1923.

Über die spezifische Rotationsdispersion der Serumeiweißfraktionen.

Von

E. A. Hafner.

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

(Eingegangen am 19. Oktober 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

I. Fragestellung.

Die nativen Eiweißkörper, die Albumine und Globuline, sind von den verschiedenen Forschern verschieden charakterisiert worden. Die Berechtigung einer Differenzierung der Eiweißkörper in Albumine und Globuline konnte nie überzeugend geführt werden, weil immer nur eine *beschränkte* Anzahl an sich nicht *immer eindeutiger Eigenschaften* an den meist nicht ausreichend gereinigten Eiweißkörpern zur Kennzeichnung herangezogen wurde. So bestehen heute im wesentlichen zwei einander diametral gegenüberstehende Auffassungen über die Natur der Albumine und Globuline: Die eine Auffassung sieht in den Albuminen und Globulinen chemisch identische Abkömmlinge ein und desselben Organeiweißes, die sich wesentlich nur durch ihren Dispersitätsgrad und dessen Funktionen unterscheiden; die andere ältere Auffassung erkennt in den Albuminen und Globulinen strukturchemisch differente Eiweißkörper mit physikalisch-chemisch verschiedenem Verhalten.

Eine kolloidchemische Charakterisierung ist immer insofern unbefriedigend, als sie nie mit völliger Sicherheit die Interkurrenz des Dispersitätsgrades auszuschließen vermag. Wir haben deshalb das Verhalten der Albumine und Globuline in einer Reihe von Arbeiten physikalisch-chemisch studiert, und die Zusammenfassung *aller* Ergebnisse scheint uns eine Entscheidung der Frage nach der Individualität der Globuline und Albumine zu ermöglichen. In einer größeren Arbeit aus unserem Institut wird diese Frage ausführlich diskutiert werden.

Physikalisch-chemische Untersuchungen sind für die Individualität der Serumeiweißfraktionen nur so weit von Bedeutung, als sie struktur-

chemisch interpretierbar und *dispersitätsinvariabel* sind. Als solche kommen zunächst in Betracht die elektrische Polarisierbarkeit, die spezifische Refraktion und die optische Aktivität, mit anderen Worten, es handelt sich letzten Endes immer um die Untersuchung der Veränderung eines eindeutig beschaffenen elektromagnetischen Feldes durch die zu untersuchenden Körper, d. h. um die Feststellung intensiver Größen. Eine Aufklärung der chemischen Struktur ist auf diesem Wege unmöglich, die Aufdeckung von wesentlichen Struktur*differenzen* aber kann das geeignete Experiment und seine sinngemäße Interpretation ergeben. Wir haben uns zunächst mit der optischen Aktivität beschäftigt.

Schon *L. Frédéricq* und *W. Kühne* haben seinerzeit die optische Aktivität des Serumeiweißes bemerkt und zu dessen Charakterisierung zu verwenden gesucht (1) (2). Vereinzelte Angaben über die spezifische Rotation der Serumeiweißkörper finden sich in der älteren Literatur häufig. Wir geben Tabelle I.

Tabelle I.
Spez. Rotation D.

Albumin		Globulin	
$[\alpha]^0$	Autor	$[\alpha]^0$	Autor
— 61,2	*Michel* (3)	— 47,98	*Marcus* (6)
— 47,47	*Maximowitsch* (4)	— 47,80	*Frédéricq* (7)
— 57	*Gürber* (5)	— 42 ÷ 49	*Porges* und *Spiro* (8)
— 33,3	*Reiss* (20)	— 51,21	*Seng* (9)

Wo. Pauli, *M. Samec* und *E. Strauss* (10) haben die Rotation der Proteinsalze untersucht und gefunden, daß lediglich die *Bindung* von Säure oder Lauge eine Drehungsänderung bewirkt, die von Säure zu Säure verschieden ist, mit anderen Worten, der Ionisationszustand des Eiweißes ist ohne Einfluß auf das optische Drehungsvermögen.

Faßt man die Kenntnisse auf diesem Gebiete zusammen, so ergibt sich: Entweder ist die spezifische Rotation zur Charakterisierung der Serumeiweißfraktionen ungeeignet oder die Autoren haben mit verschieden ungenügend gereinigten Präparaten gearbeitet. Aus Tabelle I geht nicht einmal mit Sicherheit hervor, ob die Globuline optisch aktiver sind als die Albumine.

II. Methodisches.

Es wurden deshalb aus einem Rinderserum durch Ammonsulfathalbsättigung und Ammonsulfatganzsättigung die Globuline und Albumine sukzessive getrennt, die erhaltenen Niederschläge isoliert und in destilliertem Wasser gelöst. Diese Globulin- und Albuminlösungen wurden nun einem sorgfältigen Reinigungsverfahren unterworfen,

indem wir die Ultrafiltration nach *G. Giemsa* (11) mit der Elektrodialyse nach *H. Freundlich* und *L. F. Loeb* (12) kombinierten. Bei der Elektrodialyse arbeiteten wir mit einer Spannung von 220 Volt, der Anfangsstrom war zu Beginn der Elektrodialyse auf eine Membranfläche von 12,6 qcm 10 Milliampère und sank bis zum Schluß der Reinigung auf 4 Milliampère. Die auf diesem Wege gereinigten Eiweißlösungen zeigten folgendes Verhalten: Die Albuminlösung war vollkommen klar, die Globulinlösung zeigte eine leichte Opaleszenz. Die SO_4-Reaktion mit $BaCl_2$ sowie die NH_4-Reaktion mit *Nesslers* Reagens war in beiden Fällen noch ganz schwach positiv. Das Eiweiß war isoelektrisch. Bei Halbsättigung mit $(NH_4)_2SO_4$ blieb die Albuminlösung völlig klar. Die gereinigte Globulinlösung wurde durch $(NH_4)_2SO_4$-Halbsättigung quantitativ ausgesalzen, die Albuminlösung konnte durch $(NH_4)_2SO_4$) - Ganzsättigung quantitativ ausgesalzen werden. Die spezifische Refraktion des Globulins aus der gereinigten Globulinlösung ergab sich zu 0,00193, die Restfraktion zu 0,000003; die spezifische Refraktion des Albumins ergab 0,00209, die Restrefraktion war 0. Gesamt-N und Rest-N wurden sorgfältig unter Verwendung von Präzisionsbüretten nach *Kjeldahl* bestimmt. Der Rest-N der Globulinlösung war in 1 ccm Lösung noch 0,011 mg N, der Rest-N der Albuminlösung war 0,003 mg N in 1 ccm Lösung. Es wurde nun zunächst festgestellt, ob dieser Rest-N noch optisch aktiv ist oder nicht: Für die Globulinlösung erhielten wir eine negative Drehung von $^2/_{100}{}^0$, die Restpolarisation der Albuminlösung war 0^0.

Zusammenfassend, kann man sagen, daß die weitgehend gereinigten Albumin- und Globulinlösungen alle Bedingungen erfüllten, die man wohl für den vorliegenden Zweck bezüglich des Reinigungsgrades und ihrer physiko-chemischen Intaktheit an Eiweißlösungen stellen kann.

Es zeigte sich nun, daß zu konzentrierte Lösungen für unsere Zwecke ungeeignet waren, da die Drehung im blauen Spektralgebiet nicht mehr sicher feststellbar war, andererseits war der Verdünnung nach unten infolge der Genauigkeit unserer Apparatur eine Grenze gesetzt. Wir verdünnten unsere Lösungen auf die optimale Konzentration, so daß die zu polarisierende Globulinlösung noch 0,740 Proz. Globulin und die Albuminlösung 0,724 Proz. Albumin enthielt. *Pauli* (10) arbeitete bekanntlich seinerzeit mit 0,6 Proz. Albumin. Eine Restpolarisation kam bei diesen Verdünnungen nicht mehr in Frage.

Zur Feststellung der Rotationsdispersion diente ein sorgfältig geeichter Monochromator von *Schmidt* und *Haensch*[1]). Das Polarimeter gestattet eine Ablesung auf $^1/_{100}{}^0$ genau, der mittlere Fehler des Mittels

[1]) Herrn Prof. Dr. *H. Rupe* möchte ich auch an dieser Stelle für die Erlaubnis zur Benützung seines Monochromators meinen besten Dank aussprechen.

unserer Ablesungen ist geringer als $^1/_{1000}{}^0$, etwas größer im blauen Spektralgebiet. Die Temperatur im Polarisationsrohr wurde durch Umspülung auf 20,5 bis 21° C konstant gehalten. Das Polarisationsrohr hatte eine Länge von 1 dcm.

III. Die Ergebnisse und ihre Interpretation.

Die Untersuchungen über die Rotationsdispersion von *T. M. Lowry* (13), *T. M. Lowry* und *T. W. Dickson* (14) und dann besonders diejenigen von *H. Rupe* (14) haben zu Gesetzmäßigkeiten geführt, die für die chemische Konstitutionsforschung von allergrößter Wichtigkeit geworden sind. *H. Rupe* hat an einem großen experimentellen Material von optisch aktiven Körpern, wie Menthylestern, den Derivaten des Citronellals, des Myrtenols, des Methylencamphers und vielen anderen gezeigt, daß *für Substanzen, die derselben Klasse von Verbindungen angehören, die spezifische Rotationsdispersion konstant ist.* Dasselbe fand *Walden* an den Estern der Ricinusölsäure, *Guye* und *Wassmer* an Milch- und Äpfelsäureestern. Der Dispersionsquotient für ganz normale, gesättigte, optisch aktive Substanzen ist 1,8 — 1,9. Das Gebiet ist auch theoretisch von *H. Rupe* und seinen Schülern *A. Akermann* (16), *H. Kägi* (17), *F. Bürki* (18) u. a. gründlich bearbeitet worden.

Auf Grund dieser physikalisch-chemischen und rein chemischen Konstitutionsforschungen stellen wir die Frage: Ist die spezifische Rotationsdispersion der Albumine dieselbe wie die der Globuline oder zeigen beide Körper eine verschiedene Rotationsdispersion? Trifft das letztere zu, so kann als erwiesen angesehen werden, daß die durch die $(NH_4)_2SO_4$-Aussalzung gewonnenen Eiweißkörper strukturchemisch differente Individuen sind.

Bekanntlich gilt für die spezifische Rotation

$$[\alpha] = \frac{100 \,.\, a}{l \,.\, c},$$

wobei a = abgelesene Drehung in Graden,
l = Länge des Polarisationsrohres in Dezimetern,
c = die Konzentration in Grammen auf 100 ccm der Lösung
$[\alpha]$ = die spezifische Rotation.

Die spezifische Rotation wurde im monochromatischen Licht von folgenden Wellenlängen bestimmt:

Bezeichnung	Wellenlänge	Spez. Rotation 20,5°
C Rot	656,3 $\mu\mu$	$[\alpha]_C$
D Gelb	589,3 „	$[\alpha]_D$
Hg (*E*) Grün	546,3 „	$[\alpha]_{Hg}$
F Blau	486,1 „	$[\alpha]_F$

Verwendet man nach *T. M. Lowry* und *T. W. Dickson* (13) (14) für die Darstellung der spezifischen Rotation die Formel

$$[\alpha] = \frac{k}{\lambda^2 - \lambda_0^2},$$

wobei λ die Wellenlänge und k die Rotationskonstante bedeutet, so erhält man für optisch normal dispergierende Körper, wenn man λ^2 als Funktion von $[\alpha]$ in ein rechtwinkliges Koordinatensystem einträgt, eine gleichseitige Hyperbel und demnach, wenn man $1/[\alpha]$ als Funktion von λ^2 darstellt, eine gerade Linie. Diese Funktion wollen wir als die spezifische *Dispersionsisotherme* bezeichnen. Tabelle II enthält die spezifischen Rotationen von Albumin und Globulin für die verschiedenen Wellenlängen.

Tabelle II.

20,5°	$[\alpha]_C$	$[\alpha]_D$	$[\alpha]_{Hg}$	$[\alpha]_F$
Globulin	— 59,95	— 71,86	— 89,29	— 128,46
Albumin	— 52,36	— 63,00	— 77,92	— 118,82

Abb. 1 stellt die spezifischen Dispersionsisothermen für Albumin und Globulin dar.

Aus Tabelle II und Abb. 1 ergibt sich für die spezifische Rotationsdispersion R für Globulin und Albumin:

$$R_{\text{Globulin}} = [\alpha]_F - [\alpha]_C = 78{,}5^{\circ}.$$
$$R_{\text{Albumin}} = [\alpha]_F - [\alpha]_C = 66{,}5^{\circ}.$$

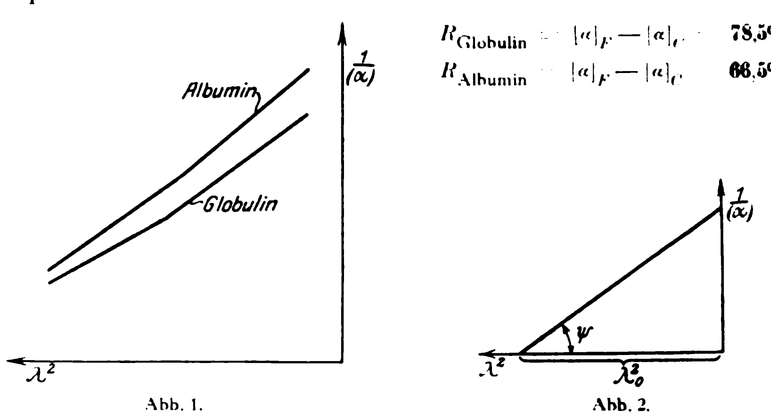


Abb. 1. Abb. 2.

Die Dispersionsquotienten sind:

$$\left(\frac{[\alpha]_F}{[\alpha]_C}\right)_{\text{Globulin}} = 2{,}1, \qquad \left(\frac{[\alpha]_F}{[\alpha]_C}\right)_{\text{Albumin}} = 2{,}3.$$

Das heißt in bezug auf den asymmetrischen **Hauptkomplex** stehen diese Eiweißkörper zwischen den Ketonen, bei denen $(\alpha)_F/(\alpha)_C = 2{,}5$ ist, und normalen, optisch aktiven Substanzen, für die $(\alpha)_F/(\alpha)_C = 1{,}9$ ist.

Für den Fall, daß die Dispersionsisotherme der Formel von *T. M. Lowry* und *T. W. Dickson* gehorcht, läßt sich, wie aus Abb. 2 leicht zu ersehen ist, k und λ_0^2 leicht bestimmen.

$$\frac{1}{[\alpha]} = \frac{1}{k} (\lambda^2 - \lambda_0^2).$$

k, die Rotationskonstante, ist $= \cot \Psi$ und ist für $\lambda^2 = \lambda_0^2$ numerisch gleich (α). λ_0 ist nichts anderes als die Entfernung des Schnittpunktes der Dispersionsisotherme vom Nullpunkt und entspricht der Eigenschwingung im Molekül. Die Dispersionsisothermen für Albumin und Globulin sind keine strengen Geraden, was nur so gedeutet werden kann, daß diese beiden Eiweißkörper eine *komplexe Rotationsdispersion* (13) (14) aufweisen. Nehmen wir aber in erster Annäherung die Kurven als gerade Linien, so ergibt sich daraus ein approximatives $\lambda_0 = 400 \cdot 10^{-7}$ cm für das Globulin und für Albumin $\lambda_0 = 417 \cdot 10^{-7}$ sec. Mit anderen Worten, der Hauptoszillatorenkomplex des Globulins hat eine Frequenz von $\nu = 7{,}5 \cdot 10^{14}$ cm/sec und Albumin einen solchen von $\nu = 7{,}2 \cdot 10^{14}$ cm/sec. Im Zusammenhang mit dem Verlauf der Dispersionsisotherme im langwelligen Lichte kommt man auf diesem Wege zu folgender vorläufiger Interpretation: Die nativen Eiweißkörper Albumin und Globulin besitzen einen identischen Kernoszillatorenkomplex, dessen Frequenz, etwa $7 \cdot 10^{14}$, weit im Violetten liegt. Für das kürzeste Ultraviolett ist $\nu = 5 \cdot 10^{15}$. Im langwelligen Gebiet splittern sich die Kurven auf, indem offenbar bei der geringeren Frequenz bei den Albuminen und Globulinen verschiedene Oszillatoren resonnieren (komplexe Rotationsdispersion). Das ist aber nur möglich, wenn die Albumine sich von den Globulinen durch verschiedene asymmetrische Komplexe unterscheiden. Daß dem so ist, zeigt ihre verschiedene Rotationsdispersion. Es ist auf diesem Wege damit wohl zum erstenmal gezeigt worden, daß die durch die *Ammonsulfataussalzung aus nativem Serum gewonnenen Albumine und Globuline strukturchemisch verschiedene Körper darstellen. E. A. Hafner* (19) hat vor kurzem erläutert, daß nach dem Mechanismus der Aussalzung diese auch zu strukturchemisch verschiedenen Körpern führen kann und eine rationelle Klassifikation darstellt, sofern vorausgesetzt werden darf, daß die elektrische Polarisierbarkeit nicht durch andere physikalische Eingriffe, wie Bestrahlung, Erwärmung usw., sekundär abnorm verändert worden ist.

Zusammenfassung.

Die durch $(NH_4)_2SO_4$-Aussalzung aus Rinderserum gewonnenen und weitgehend gereinigten Albumine und Globuline unterscheiden sich in ihrer spezifischen Rotation. Ihre Dispersionsisotherme zeigt auch eine große Verschiedenheit in der Rotationsdispersion, woraus

sich ergibt: die durch $(NH_4)_2SO_4$-Aussalzung aus nativem Serum gewonnenen Albumine und Globuline sind strukturchemisch zwei verschiedene Körper.

Literatur.

1) *L. Frédéricq*, Arch. de Biol. **1**, 457, 1880; **2**, 379, 1881. — 2) *W. Kühne*, Zeitschr. f. Biol. **20**, 11, 1884. — 3) *A. Michel*, Würzburger Physiol. med. Ges. **29**, 117, 1885. — 4) *Maximowitsch*, Malys Jahresber. **31**, 35. — 5) *A. Gürber*, Sitzber. d. Würzburger physio.-med. Ges. **29**, 139, 1895. — 6) Zitiert nach *W. Seng*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **31**, 513, 1899. — 7) *L. Frédéricq*, Bull. Acad. Roy. de Belg. **2**. — 8) *O. Porges* und *K. Spiro*, Hofmeisters Beitr. **3**, 277, 1902. — 9) *W. Seng*. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **31**, 513, 1899. — 10) *Wo. Pauli*, *M. Samec* und *E. Strauss*, diese Zeitschr. **59**, 470, 1914. — 11) *G. Giemsa*, ebendaselbst **132**, 488, 1922. — 12) *H. Freundlich* und *L. F. Loeb*, ebendaselbst **150**, 522, 1924. — 13) *T. M. Lowry*, Journ. Chem. Soc. **103**, 1062, 1913. — 14) *T. M. Lowry* und *T. W. Dickson*, ebendaselbst **107**, 1174, 1915. — 15) *H. Rupe*, Liebigs Ann. d. Chem. **409**, 327, 1915. — 16) *A. Akermann*, ebendaselbst **420**, 1, 1920. — 17) *H. Kägi*, ebendaselbst **420**, 33, 1920. — 18) *F. Bürki*, Helv. chim. **7**, 163, 1924; **7**, 328, 1924; **7**, 537, 1924; **7**, 759, 1924. — 19) *E. A. Hafner*, diese Zeitschr. **165**, 29, 1925. — 20) Hofmeisters Beiträge **4**, 150, 1904.

Über den Einfluß der Erythrocytenladungen auf deren Sedimentierungsgeschwindigkeit.

Von

A. Collaud.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik Bern.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Eine bis jetzt recht verwickelte und noch in Diskussion stehende Frage, über welche eine Einigung noch lange nicht besteht, ist wohl diejenige des Ursprungs der verschiedenen Senkungsgeschwindigkeiten der Erythrocyten. *Fahraeus*, der Begründer der Theorie, wonach die wichtige Rolle dabei den Erythrocytenladungen zuzuschreiben wäre, hat neuerdings diesen Gesichtspunkt verlassen. Nach *Wöhlisch* (1) würde ihnen nur eine untergeordnete Rolle zukommen. Dagegen haben andere Autoren den elektrokinetischen Standpunkt zu retten versucht und sich bemüht, einen Parallelismus zwischen der Senkungsgeschwindigkeit und den Ladungen nachzuweisen, ohne eigentlich zu überzeugenden und schlagenden Resultaten gelangt zu sein, obwohl im Grunde eine gewisse Übereinstimmung festgestellt werden konnte. Der Einfluß des Fibrinogens auf die Senkungsgeschwindigkeit ist bekannt, aber noch andere Faktoren spielen dabei eine Rolle, eine solche wurde auch dem Cholesterin zugeschrieben (*Kurten*); *Abderhalden* (2) zeigte, daß die dialysierbaren Substanzen einen Einfluß haben. Wenn man sich aber an die Wirkung der Elektrolyten auf die Kolloide, den Einfluß der Ionen und der Kolloide auf die Adsorptionsphänomene und auf das Membrangleichgewicht, welches daraus resultiert, erinnert, kommt man zu der Überzeugung, daß in diesen Phänomenen und folglich in den *Donnan*schen Membranpotentialen (3) die Ursache liegt, welche die Agglutination der Erythrocyten und ihre Senkungsgeschwindigkeit beherrscht.

Um Klarheit in diese umstrittene Frage zu bringen, versuchten wir uns über den quantitativen Zusammenhang dieser beiden Phänomene Rechenschaft zu geben und eine mathematische Formel abzuleiten,

welche beide Faktoren enthält. Wir ließen uns von folgenden Überlegungen leiten.

Nach *Smoluchowsky* (4) können sich zwei kolloidale Partikel nur dann agglutinieren, wenn das eine in den Wirkungskreis des anderen tritt. Hierzu ist es aber wesentliche Bedingung, daß ihre lebendige Kraft, d. h. die kinetische Energie, welche sie einander nähert, genügend sei, um die elektrostatische Rückstoßung, welche wegen ihrer gleichnamigen Ladung erfolgt, zu überwinden. Diese Rückstoßung macht sich aber nur bemerkbar, wenn beide Partikel sich in unmittelbarer Nähe befinden, da sie sonst dank der sie schützenden elektrischen Doppelschicht nach *Helmholz-Lamb* einander gegenüber wirkungslos bleiben. *Westgren* und *Reichstätter* (5) zeigten experimentell, daß die Partikel sich berühren müssen, wenn sie sich vereinigen und aneinander festhaften sollen, und daß erst dann die elektrokapillaren Adhäsionskräfte in Funktion treten können. Wenn die Ladungen genügend stark sind, ist die unmittelbare Berührung verhindert und die Anziehungs- und Adhäsionskräfte haben keine Gelegenheit in Kraft zu treten. Der Zusatz eines geeigneten Elektrolyten vermindert oder neutralisiert die Ladung und gestattet die Agglutination. Nach dieser Theorie ist die Intensität, die Geschwindigkeit und die Dauer der Agglutination oder der Flokulation eine Funktion der Ladung der Partikel. Ist die Ladung stark, dann sind natürlich weniger Partikel vorhanden, welche die nötige kinetische Energie besitzen, um die gegenseitige elektrische Abstoßung zu überwinden. Die Stöße und Begegnungen, welche zu einer Agglutination führen, sind weniger zahlreich, und die Flocken wachsen infolgedessen langsamer und bleiben kleiner. Das ist die Erscheinung der langsamen Koagulation, d. h. der langsamen Agglutination von *Smoluchowsky*. Der letztgenannte Autor identifiziert zwar die Begriffe Koagulation und Agglutination; wir benutzen hier das Wort Koagulation, um eine Konfusion zu verhindern, nur für die Blutgerinnung und in den Fällen von Flokulation werden wir von Agglutination und Aggregation sprechen.

In den Fällen, wo die Partikel in einem neutralen oder dem Neutralitätspunkt nahen Zustande sind, erfolgt die Agglutination momentan, das ist die rasche Agglutination nach *Smoluchowsky*.

Die experimentellen Ergebnisse von *Odèn* (6) und *Zsigmondy* (7) stimmen in allen Punkten mit dieser elektrokinetischen und statistischen Theorie überein, ganz besonders ist dies der Fall bei denjenigen von *Odèn*, wo die Maximalgrößen der Flocken im engen Zusammenhang mit der Ladung der Partikel und der Menge des angewandten agglutinierenden Elektrolyten stehen.

Andererseits wies *Perrin* (8) nach, daß die Emulsionen und Suspensionen den gleichen Gesetzen wie die kolloidalen Lösungen folgen, und daß die Folgerungen aus der einen Gruppe sich auch auf die andere übertragen lassen.

Im folgenden bezeichnen wir durch e die mittlere Ladung des Erythrocyten, der hier die Rolle des oben in Betracht gezogenen kolloidalen Partikels spielt, und welchen wir der Einfachheit halber einer kleinen gleichmäßigen Kugel mit dem Radius r gleichstellen.

Die Flocken oder Aggregate, welche durch die Agglutination der Erythrocyten gebildet werden, sind in Wirklichkeit nicht kugelförmig.

wie es die *Stokes*sche Formel, die wir später anwenden werden, annimmt. Man kann aber kugelförmige Teilchen einführen, welche in ihrem Verhalten den nicht kugeligen Flocken äquivalent sind. An Stelle der wirklichen Dimensionen der letzten setzen wir in die Gleichungen den sogenannten äquivalenten Radius ein. Wir setzen also auch die Aggregate kleinen Kugeln mit dem Radius R gleich.

Nehmen wir jetzt eine durch Agglutination von Erythrocyten gebildete Flocke an, so ist ihre Ladung gleich der Summe der Ladungen der agglutinierten Erythrocyten. Sie wird dann immer mehr wachsen, bis zu dem Augenblick, wo die durch Hinzukommen neuer Erythrocyten gesteigerte Ladung imstande sein wird, alle anderen Erythrocyten fernzuhalten. Wenn in diesem Augenblick die Zahl der agglutinierten Erythrocyten gleich n ist, so ist die Ladung der Flocke nach dem Vorhergehenden gleich ne.

In dem Augenblick, wo der Gleichgewichtszustand erreicht ist und die Flocke zu wachsen aufhört, ist die durch die Abstoßungskräfte gelieferte Arbeit gleich derjenigen, welche durch die Fortbewegung des sich nähernden Erythrocyten geliefert wird. Andererseits ist die durch die Ladung unserer Flocke bedingte Abstoßung nach einem bekannten physikalischen Gesetz dieselbe, als ob die ganze Ladung im Zentrum der kugelförmigen Flocke angesammelt wäre, d. h. in der Entfernung R von der Peripherie aus. In der unmittelbaren Nachbarschaft der Flocke, also in der Distanz R vom Zentrum aus, ist nach dem *Coulomb*schen Gesetz die auf den herankommenden Erythrocyten ausgeübte Abstoßung gleich $\frac{n e . e}{R . R}$. Wir wollen im folgenden mit dR die im Verhältnis zum Radius eines roten Blutkörperchens unendlich kleine Entfernung, welche zum Zwecke der Adhäsion durchlaufen werden muß und bei der die Abstoßungskraft erst in Wirkung treten kann, und mit a die Größe der das Körperchen bewegenden Kraft bezeichnen.

Da der Grenzzustand als erreicht betrachtet wird, und da infolgedessen die Arbeiten beider Kräfte auf derselben Strecke dR gleich sind, so resultiert daraus, daß diese letzten einander gleich sind. Wir dürfen deshalb schreiben

$$\frac{n e \cdot e}{R R} = a. \tag{1}$$

Das Volumen der Flocke ist gleich $n$mal demjenigen des Erythrocyten, also

$$\frac{n \cdot 4 \pi r^3}{3} = \frac{4 \pi R^3}{3}.$$

Aus dieser letzten Formel entnimmt man den Wert von $n = \frac{R^3}{r^3}$, den man in (1) einführt, und erhält so

$$R = \frac{a \cdot r^3}{e^2}. \qquad (2)$$

Wir gelangen so zu dem Resultat, daß der größte Radius einer Flocke umgekehrt proportional dem Quadrat der Ladung des Erythrocyten sich verhält.

Andererseits zeigte *Stokes* (9), daß, wenn ein kugelförmiges Partikelchen, das sich selbst überlasssen ist, mit gleichmäßiger Geschwindigkeit in eine Flüssigkeit fällt, die Kraft gleich $6\pi R\eta v$ ist, wobei η die Viskosität der Flüssigkeit, v die Senkungsgeschwindigkeit und R der Radius des Partikelchens ist. Wenn sich das Partikelchen unter dem Einfluß der Schwere senkt, so ist die Kraft nach *Stokes* durch folgende Formel gegeben:

$$\frac{4\pi R (D-d) g}{3},$$

wobei $(D - d)$ die Differenz zwischen dem spezifischen Gewicht des Partikelchens und demjenigen der Flüssigkeit ist. Man hat also für ein gegebenes Partikelchen und eine gegebene Flüssigkeit, indem man beide Formeln der Kraft gleich setzt

$$6\pi n R v = \tfrac{4}{3}\pi R^3 (D-d) g$$

$$v = \frac{2R^2}{9n}(D-d) g. \qquad (3)$$

Im vorliegenden Falle ersetzen wir das *Stokes*sche Partikel durch unsere Erythrocytenflocke und die Flüssigkeit durch das Citratplasma. Wir versehen nun die Buchstaben R, η, v, welche verschiedenem Blute entsprechen, mit den Indizes 1, 2, 3 und nehmen an, daß $(D-d)g$ überall denselben Wert habe.

Wenn wir die Formel (3) für zwei verschiedene Blutarten schreiben und die Gleichungen Glied für Glied durcheinander dividieren, so erhalten wir

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{n_2 R_1^2}{n_1 R_2^2}. \qquad (4)$$

Weiter oben sahen wir, daß

$$R_1 = \frac{a r^3}{e_1^2}, \text{ also ist } R_1^2 = \frac{a^2 r^6}{e_1^4}.$$

Indem wir R_1^2 und den entsprechenden Wert für R_2^2 in die Gleichung (4) einführen, erhalten wir sofort

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{\eta_2 a^2 r^6 e_2^4}{\eta_1 a^2 r^6 e_1^4} = \frac{\eta_2 e_2^4}{\eta_1 e_1^4}. \tag{5}$$

Daraus schließen wir

$$\eta_1 v_1 e_1^4 = \eta_2 v_2 e_2^4 \text{ und ebenso } = \eta_3 v_3 e_3^4 = \text{Konstante}. \tag{6}$$

Wir bekommen also das wichtige Resultat: bei gleicher Viskosität ist die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten umgekehrt proportional der vierten Potenz ihrer Ladung.

Da diese Formel sich nur wenig für eine experimentelle Nachprüfung eignet, wollen wir die Geschwindigeit eines Partikels, d. h. eines Erythrocyten, im elektrischen Felde einführen.

Nach *Lamb-Helmholtz* (10) ist diese Geschwindigkeit u von der Potentialdifferenz zwischen dem Partikelchen und der Flüssigkeit abhängig nach der Formel

$$V = \frac{4\pi h u}{K X}.$$

wobei V die Potentialdifferenz, h die Viskosität der Flüssigkeit, in welcher sich die Kataphorese abspielt, K die Dielektrizitätskonstante, X die Potentialdifferenz in Volts pro Zentimeter, unter deren Einfluß die Kataphorese stattfindet, u die Geschwindigkeit des Erythrocyten bedeutet.

Wenn die Messungen unter gleichen Bedingungen gemacht werden, werden X, K und h stets den gleichen Wert behalten, so daß wir von ihnen absehen können. Wenn wir schließlich noch annehmen, daß die Ladung der Erythrocyten der Potentialdifferenz V proportional ist, erhalten wir mit Berücksichtigung der Indizes

$$\frac{u_1}{u_2} = \frac{V_1}{V_2} = \frac{e_1}{e_2},$$

somit sind die u_1, u_2 usw. proportional e_1, e_2 usw., und wir können deshalb in (6) die e durch die u ersetzen. So gelangt man zu

$$\eta_1 v_1 u_1^4 = \eta_2 v_2 u_2^4 = \text{Konstante}. \tag{7}$$

Um diese Formel nachzuprüfen, machten wir Messungen der Kataphorese unter Anwendung der *Michaelis*schen Versuchsanordnung (11). Mit Rücksicht auf die Schwere der Erythrocyten und um eine zu rasche Sedimentierung in der Kapillarkammer zu verhindern, bedienten wir uns in den Versuchen (1) und (2) einer Erythrocytensuspension in einer 5,5proz. Zuckerlösung, und im Versuch (3) eines Gemisches von gleichen Teilen Glycerin und 0,9proz. NaCl-Lösung.

Blut Gy. (*Hämophilie*).

1. v = 10 Teilstriche des Hämometers von *Sahli*[1]) in 49 Minuten.

v pro Minute $= \frac{10}{49}$.

Mittlerer Wert von u = 6,3 Teilstriche des Mikrometers pro Sekunde.

vu^4 = 320.

Blut Wo. (*Hämophilie*).

v = 13 Teilstriche des Hämometers von *Sahli* in 39 Minuten.

v pro Minute $= \frac{13}{39}$.

u = 5,3 Teilstriche des Mikrometers pro Sekunde.

vu^4 = 260.

Blut Gy.

2. v = 9 Teilstriche in 108 Minuten.

u = 7,8 Teilstriche pro Sekunde.

vu^4 = 300.

Blut Wo.

v = 20 Teilstriche in 67 Minuten.

u = 5,8 Teilstriche pro Sekunde.

vu^4 = 340.

Blut Gy.

3. v = 5 Teilstriche in 40 Minuten (Glycerinkochsalz).

u = 4 Teilstriche pro Sekunde.

vu^4 = 32.

Blut Wo.

v = 5 Teilstriche in 18 Minuten (Glycerinkochsalz).

u = 3,5 Teilstriche pro Sekunde.

vu^4 = 41.

Blut Sur. (*gesund*). (*Glycerinkochsalz*).

4. v = 7 Teilstriche in 23 Minuten.

u = 3,4 Teilstriche pro Sekunde.

vu^4 = 39.

Diese Zahlen zeigen, daß unter gleicher Versuchsbedingung in der Tat, wie es unsere Formel verlangt, das Produkt vu^4, folglich auch ve^4 annähernd (innerhalb der Fehlergrenzen) konstant ist. Wir versuchten unsere Formeln auch noch mit den Angaben, die in der Literatur verzeichnet sind, nachzuprüfen.

Mond (12) setzte eine Erythrocytensuspension in einer Globulinlösung während verschiedener Zeitdauer ultravioletten Strahlen aus. Man weiß, daß eine solche Bestrahlung den Dispersitätsgrad der Globuline beeinflußt und sie leichter adsorbierbar macht. Das Endresultat ist eine der Dauer und Intensität der Bestrahlung proportionale Steigerung der Senkungsgeschwindigkeit.

[1]) Die Sedimentierung wird in *Sahli*schen Hämometerröhrchen in dem mit 1 Proz. Natriumcitrat versetzten Blute (also im Citratplasma) vorgenommen.

Mond gibt das folgende Beispiel an:

Vor der Bestrahlung	Nach 7stündiger Bestrahlung
$v = 16$ mm in 30 Minuten.	$v = 30$ mm in 30 Minuten.

Verhältniszahlen für die relativen Ladungen.

$$e = \frac{1}{2500} \qquad e = \frac{1}{2750}$$

daraus berechnet man

$$ve^4 = 0{,}000064. \qquad ve^4 = 0{,}000072.$$

Also erscheint auch nach diesen Zahlen das Produkt ve^4, wie es unsere Formel verlangt, (innerhalb der Fehlergrenzen) annähernd konstant.

Außer diesen Versuchen kommen diejenigen von *Oden* hinzu, die von *Freundlich* (13) zitiert werden. Da die Übereinstimmung gut ist, sei es uns gestattet, diese wiederzugeben.

Odèn erzeugte die Flokulation einer $BaSO_4$-Suspension durch Zusatz eines Elektrolyten. Wir entnehmen von *Freundlich* folgende Tabelle.

Konzentration des Koagulators Millimole pro Liter		Dauer der Aggregation	Maximaler Äquivalentradius der Flocken in Mikronen (Nach der *Stokes*schen Formel berechnet)
(1)	5,95	17′20″	1
(2)	11,9	6 16	6
(3)	23,8	3 10	7
(4)	47,5	2 5	8
(5)	95	2	11
(6)	190	1 14	13

Andererseits ist die durch Elektrolytenzusatz verminderte Ladung eines kolloidalen Partikels abhängig von der Konzentration des Elektrolyten, was sich nach *Freundlich* (14) durch folgende Formel darstellen läßt:

$$\log \frac{\gamma}{c} = K e . \qquad (8)$$

wobei K und γ Konstanten sind. Diese Formel entspricht nach *Freundlich* in gewissen Grenzen ziemlich genau den Experimentalmessungen.

Da der Äquivalentradius der Flocken als Funktion von e durch unsere Gleichung (2) gegeben ist, entnehmen wir aus dieser e und tragen dessen Wert in die Gleichung (8), dies ergibt, wenn K jetzt eine neue Konstante bedeutet,

$$\log \frac{\gamma}{c} = \frac{K}{\sqrt{R}} .$$

Wenn c_1 und c_2 zwei verschiedene Elektrolytenkonzentrationen sind, erhalten wir aus der letzten Gleichung, um die Konstante γ auszuschalten,

$$\log \gamma = \frac{K}{\sqrt{R_1}} + \log c_1 = \frac{K}{\sqrt{R_2}} + \log c_2 .$$

woraus folgt

$$K = \frac{\log c_2 - \log c_1}{\frac{1}{\sqrt{R_1}} - \frac{1}{\sqrt{R_2}}}. \tag{9}$$

Wenn wir in diese Formel für c_1 und c_2 irgend zwei Koagulatorkonzentrationen der *Odén*schen Tabelle und für R die entsprechenden Radien eintragen, müssen wir immer, wenn unsere Gleichung (2) gültig sein soll, den gleichen Wert für K finden.

Dies ist der Fall, den einzigen stimmenden Wert erhalten wir mit der Konzentration (1), was sich leicht dadurch erklären läßt, daß die Formel (8) nur für ein gewisses Gebiet gültig ist, welches zu kleine Konzentrationen ausschließt.

Versuch	K	Versuch	K
(1) · (2)	0,52	(3) · (5)	7,9
(2) · (3)	10,3	(3) · (6)	9,9
(2) · (4)	10	(4) · (5)	6
(2) · (5)	8,5	(4) · (6)	8
(2) · (6)	10	(5) · (6)	12
(3) · (4)	12,1		

Hätten wir anstatt unserer Formel (2): $R = \frac{ar^3}{e^2}$ eine andere, z. B. $R = \frac{ar^3}{e}$ gefunden, dann würden wir für K stark voneinander abweichende Werte erhalten, wie nachfolgende Zahlen zeigen:

K	K	K	K
0,36	12	11,5	12,5
12,6	11,7	13,6	21,5
14,5	16,8	8,8	

Die Bestätigung unserer Formel (9) schließt auch diejenige der Gleichungen ein, welche uns zur Konstruktion dieser Formel führten und ganz besonders der Gleichungen (2) und folglich auch der Gleichung (6), die sich von (2) ableiten läßt. Die Bestätigung ist vollkommener, als wir es zu hoffen gewagt hätten, und um so erstaunlicher, da wir von dem *Stokes*schen Gesetz ausgingen, das streng genommen nur für kugelförmige Partikel gilt.

Unsere verschiedenen Gleichungen scheinen also den Experimenten zu entsprechen. Es geht daraus auch hervor, daß zum Studium der Stabilität der Erythrocyten die Methode der Messung der Senkungsgeschwindigkeit viel empfindlicher ist als diejenige der Ladungsbestimmung, da diese letztere in unserer Formel in der vierten Potenz erscheint. Den sehr kleinen Ladungsdifferenzen entsprechen sehr

deutliche Unterschiede der Senkungsgeschwindigkeit; wenn z. B. die Ladung oder die Kataphoresegeschwindigkeit sich um ein Zehntel vermindert, so wird die Senkungsgeschwindigkeit anderthalbmal größer sein.

Wir dürfen ruhig annehmen, daß die Ladungsunterschiede wegen ihrer Kleinheit ungefähr der Größenordnung der Beobachtungsfehler entsprechen. Dieser Umstand erklärt das Mißlingen der Untersuchungen derjenigen Autoren, welche den Parallelismus beider Erscheinungen zu demonstrieren versuchten.

Da, wie wir ausführten, die Agglutination der Erythrocyten nichts anderes als ein besonderer Fall der von *Smoluchowsky* beschriebenen Vorgänge ist, welcher nur durch die großen Dimensionen der Partikel ausgezeichnet ist, so dürfen wir Sedimentierungskurven von dem Aussehen der Abb. 1 erwarten.

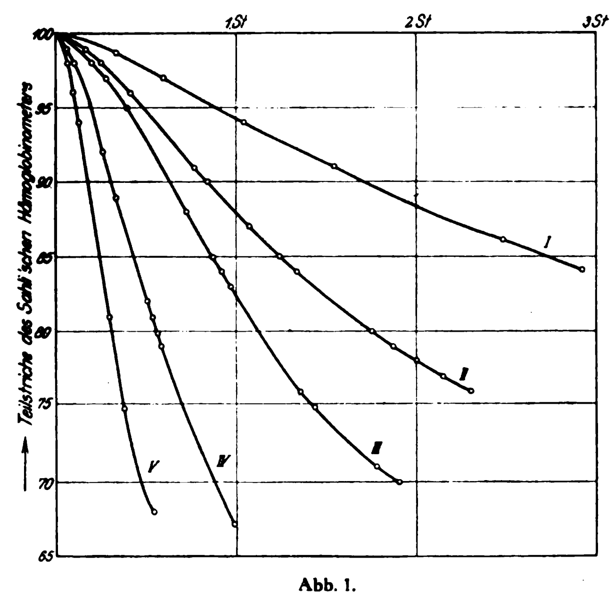


Abb. 1.

Diese Kurven, mit veränderlicher Krümmung, zeigen den Verlauf der Erythrocytensenkung. Die Senkung (1,6 ccm Blut + 0,4 ccm 5 proz. Na-Citrat) findet in den Hämometerröhrchen von *Sahli* statt.

I, II, III, IV: Senkungskurven bei Hämophilie,
V: Senkungskurve bei essentieller Thrombopénie.

In die Abszisse sind die Zeiten eingetragen und in die Ordinaten die sukzessiven Niveaus der Erythrocytensäule.

Der erste Teil wird nach oben konvex sein und die Agglutinationszeit darstellen (Aggregationszeit nach *Odèn*). Während dieser Zeit kleben sich die Erythrocyten aneinander und die Senkungsgeschwindig-

keit nimmt nach dem *Stokes*schen Gesetz in demselben Maße zu, als das Volumen der Flocken wächst.

Wenn die Agglutination beendigt ist, bleibt das Volumen der Aggregate und folglich auch ihre Senkungsgeschwindigkeit konstant, was dem geradlinigen Teile der Kurve entspricht.

In ihrem dritten Abschnitt ist die Kurve nach oben konkav, durch die Verlangsamung der Senkung infolge der Anhäufung der Erythrocyten.

In unseren Kurven kommt auch eine andere, sehr wichtige Teilerscheinung im Phänomen der Agglutination, welche wir bereits weiter oben erwähnten, zur Geltung, nämlich die durch den konvexen Teil der Sedimentierungskurve gegebene Dauer der Agglutination, die, wie aus der Tabelle von *Odèn* hervorgeht, der Ladung der Partikel proportional und somit der Senkungsgeschwindigkeit umgekehrt proportional ist. Dies trifft auf unsere Kurven zu und ist für unsere elektrokinetische Anschauung um so mehr beweisend, als die Flocken größer angenommen werden müssen bei rascher als bei langsamer Senkung, obschon sie nach den Kurven und den erwähnten Kriterien sich rascher gebildet haben müssen. Wir können noch bemerken, daß unsere Kurven dem Bereiche der langsamen Agglutination von *Smoluchowsky* angehören.

Die hier oben entwickelte Theorie präjudiziert natürlich nicht den Mechanismus, durch welchen die Ladungen der Erythrocyten in gewissen Zuständen des Organismus verringert sind. Die Rolle der Klebrigkeit und Adhäsionskraft der Erythrocyten ist nach unserer Meinung nichts anderes als diejenige eines Zementes, welche die in Kontakt geratenen Erythrocyten aneinander klebt, sie bedingen nur die Solidität des Aggregats, nicht aber seine Dimensionen, die durch die elektrischen Ladungen beherrscht werden. Es ist übrigens sehr wahrscheinlich, daß eine Verminderung der Ladung infolge der Oberflächenadsorption von Fibrinogen mit einer Vermehrung des Adhäsionsvermögens und der Viskosität der Erythrocyten verbunden ist, da es bekannt ist, daß eine Fibrinogenlösung visköser und klebriger ist als eine Lösung von Albumin.

Die Wichtigkeit des elektrischen Phänomens ist grundlegend, und wenn man sich mit *Freundlich* fragt, was nötig ist, damit eine Agglutination vor sich gehen kann und sich bis zu einem bestimmten Grade fortsetzt, so wird die Antwort notwendigerweise dahin lauten, daß es sich im Grunde um eine elektrokinetische Erscheinung handelt. Denn es ist unerläßlich, daß die Ursachen, welche die Agglutination verhindern, ausgeschaltet oder eingeschränkt werden; die Ladungen müssen bis zu einem kritischen Werte herabgesetzt werden, welcher den unmittelbaren Kontakt der Partikel und die Infunktionsetzung der elektrokapillaren Adhäsions- und der Anziehungskräfte gestattet.

Es wäre durchaus willkürlich, für die roten Blutkörperchen infolge ihrer Dimensionen eine Ausnahme machen zu wollen. Wie wir bereits weiter oben gesagt haben, gilt das Gesetz nicht nur für kolloidale Partikel, sondern auch für Suspensionen, wie z. B. für Öltröpfchen in Wasser. In letzterem, von *Powis* (15) studiertem Falle, wurde der absolute Nachweis für die elektrokinetische Natur der Aggregation gebracht.

Literatur.

1) *Ed. Wöhlisch*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **40**, 1924. — 2) *Abderhalden*, Fermentforschung, Jahrg. 4, Nr. 3. — 3) *Donnan*, zitiert nach *Mc Lewis*, Physik. Chem. **2**. Paris. — 4) *v. Smoluchowsky*, Zeitschr. f. physik. Chem. **92**, 1918. — 5) *Westgren* und *Reichstätter*, ebendaselbst **92**, 1918. — 6) *Odèn*, zitiert nach *Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., S. 603 und 613. — 7) *Zsigmondy*, Zeitschr. f. physik. Chem. **92**, 1918. — 8) *Perrin*, Les atomes. Paris. — 9) *Stokes*, zitiert nach *Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., S. 471. — 10) *Lamb-Helmholtz*, zitiert nach *Mc Lewis*, Physik. Chem., französische Auflage, 1, 471. — 11) *L. Michaelis*, Praktikum d. physik. Chem. 1921. — 12) *Mond* und *Höber*, Klin. Wochenschr. Nr. 49, 1922. — 13) 14) *Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., S. 356 und 613. — 15) *Powis*, zitiert nach *Freundlich*, op. cit., S. 573ff.

Überführung des Methylglyoxals in Brenztraubensäure.

Von

Carl Neuberg und Günther Gorr.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Eine Hauptgrundlage des Gärungsschemas bildet die Annahme, daß durch einfache Wasserabspaltung und Aldoldepolymerisation aus Hexose entstandenes Methylglyoxal im Verlauf gekoppelter Oxydoreduktionen in Brenztraubensäure übergeführt wird, die dann selbst carboxylatischer Vergärung anheimfällt. Es war unter diesen Umständen nicht ohne Interesse, zu sehen, ob sich Methylglyoxal mit einem geeigneten Oxydationsmittel, das dabei selber reduziert wird, in Brenztraubensäure umwandeln läßt.

Diese unseres Wissens bisher nicht bewerkstelligte Reaktion wird nun mit überraschender Leichtigkeit durch Bromwasser vollzogen, gemäß der Formulierung:

$$\begin{matrix} CH_3.CO.COH & + & O & & CH_3.CO.COOH \\ + & & \| & = & + \\ Br_2 & & H_2 & & 2\,HBr. \end{matrix}$$

Sowohl bei Zimmertemperatur (etwa 20°) im Tageslicht als bei 30° im Brutschrank entsteht auf diese Weise Brenztraubensäure in guter Ausbeute aus Methylglyoxal. Verwendet man eine rund 1 proz. Lösung von Methylglyoxal, so benötigt die Oxydation im zerstreuten Tageslicht $1\frac{1}{2}$- bis 2 tägiges Zuwarten; im Thermostaten tritt sie auch im Dunkeln in der gleichen Zeit ein. Dabei macht sich, wenn man bei 30° arbeitet, ein schwacher Geruch nach Bromoform bemerkbar.

Daß die Umwandlung von Methylglyoxal in Brenztraubensäure schnell fortschreitet, kann man an Hand der Nitroprussid-Natronlauge-Probe verfolgen. Mit diesem Reagens gibt nur konzentriertes Methylglyoxal eine Farbenreaktion, während Brenztraubensäure damit auch in starker Verdünnung die bekannte braunrote Färbung annimmt, die auf Zusatz von Essigsäure in Violett umschlägt. Natürlich muß man bei Anstellung der Probe unverbrauchtes Brom zuvor aus der verdünnten Lösung durch einen Luftstrom austreiben; Bromwasserstoff stört nicht.

Die gebildete Brenztraubensäure isoliert man am einfachsten in Form ihres p-Nitro-phenylhydrazons. Im Falle, daß noch unverändertes Methylglyoxal zugegen ist, erhält man bei Behandlung mit essigsaurem p-Nitro-phenylhydrazin selbstverständlich auch Methylglyoxal-p-nitrophenylosazon. Beide Körper können leicht durch Be-

handlung mit verdünntem Ammoniak getrennt werden; hierin löst sich die Nitro-phenylhydrazin-brenztraubensäure als Salz auf und kann durch Essigsäure wieder abgeschieden werden.

Unter geeigneten Bedingungen — Zusatz von Natriumacetat zum Bromwasser — läßt sich eine praktisch quantitative Umwandlung des Methylglyoxals in Brenztraubensäure erzielen.

Von zwei Ansätzen, bestehend aus 20 ccm 5proz. Methylglyoxal, 75 ccm Wasser und 0,7 ccm = 2,2 g Brom, wurde der eine am Fenster bei Zimmertemperatur, der andere im Brutschrank bei 30° aufgehoben. In beiden Versuchen war nach 2 Tagen das Brom vollständig verschwunden. Beide Flüssigkeiten wurden alsdann mit je 5 g p-Nitrophenylhydrazin, das in Essigsäure gelöst war, versetzt und 1 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Der ausgefallene Niederschlag wurde abgenutscht und zweimal im Mörser mit je 50 ccm verdünnten Ammoniaks verrieben. Die ammoniakalischen Lösungen wurden abgesaugt und mit Essigsäure gefällt, wobei sich — im ersten Augenblick gallertig — das rein gelbe p-Nitro-phenylhydrazon der Brenztraubensäure abschied; der in Ammoniak unlösliche, rotgefärbte Rückstand war das Methylglyoxal-osazon. Erhalten wurden in Versuch I 0,85 g und in Versuch II 0,78 g Methylglyoxal-p-nitrophenylosazon, während 2,38 bzw. 2,31 g Brenztraubensäurehydrazon isoliert werden konnten. Diese Ausbeuten entsprechen 77 bzw. 74 Proz. der Theorie.

Ein noch besseres Ergebnis wird erzielt, wenn man zu dem Ansatz eine dem entstehenden Bromwasserstoff äquivalente Menge Natriumacetat von vornherein hinzugibt; allem Anschein nach stört die Salzsäure irgendwie den quantitativen Verlauf der Reaktion. So konnten wir aus einem Versuch mit 10 ccm 5proz. Methylglyoxal, 37 ccm Wasser und 0,35 ccm Brom unter Zufügung von 2 g kristallisierten Natriumacetat nach zweitägigem Stehen bei Zimmertemperatur 1,4 g Brenztraubensäure-p-nitro-phenylhydrazon vom Schmelzpunkt 217° erhalten, was 90 Proz. der Theorie ausmacht.

Das Vorliegen von Brenztraubensäure wurde durch die Analyse ihres aus 60proz. Alkohol umkristallisierten und dann bei 219° schmelzenden p-Nitrophenylosazons bestätigt.

0,1440 g Substanz: 23,5 ccm N_2 (21°, 767 mm).
$C_9H_9O_4N_3$. Ber.: N = 18,84 Proz.; gef.: N = 19,02 Proz.

Damit ist die rein chemische Überführung von Methylglyoxal in Brenztraubensäure erreicht. Nach Vorversuchen läßt sich das Verfahren auch auf andere Ketonaldehyde übertragen; man kann hoffen, von den Osonen aus zu α-Ketosäuren von definierter Struktur zu gelangen.

Über die gekreuzte Dismutation zwischen Aldehyd und Keton.

Von

Carl Neuberg und **Günther Gorr.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Es steht fest, daß beim Abbau von Kohlenhydraten und anderen Substanzen Zwischenglieder eine Rolle spielen, die auf dem Wege der *Dismutation* weiter verarbeitet werden. Demgemäß enthält das allgemeine Schema der Zuckerspaltungen[1]) als einen wesentlichen Bestandteil die Annahme einer Reihe von solchen Dismutationsprozessen. An einigen besonders sinnfälligen Beispielen konnten jüngst *C. Neuberg* und *F. Windisch*[2]) die weitgehende biologische Bedeutung des Vorganges darlegen, nämlich für den Ablauf der Essiggärungen und verwandter Erscheinungen. Das erwähnte Gärungsschema sieht vor, daß eine Dismutation zwischen ungleichen Carbonylverbindungen beim Eintritt der alkoholischen Zuckerspaltung stattfinden muß, und zu einer ganz ähnlichen Formulierung ist vor kurzem auch *H. B. Speakman*[3]) für die Deutung der Teilprozesse gelangt, die sich bei der Acetongärung vollziehen.

Der *Lieben*schen Schule gebührt das ein wenig in Vergessenheit geratene Verdienst, den *Eintritt der eigentlichen Cannizzaroschen Reaktion in wässeriger Lösung auch zwischen verschiedenen Aldehyden* aufgefunden zu haben.

M. Brauchbar[4]) sowie *Ad. Franke*[5]) haben dieses z. B. für das Aldehydpaar Isobutyl-aldehyd und Trimethyl-pentanolal dargetan, *V. Neu-*

---

[1]) *C. Neuberg*, Monogr. Jena **1913**, S. 13; und im Beitrag: Vom Zuckerumsatz der pflanzlichen Zelle. Oppenheimers Handb. d. Biochem., 2. Aufl., II, 459, **1924**.

[2]) *C. Neuberg* und *F. Windisch*, „Naturwissenschaften", **1925**.

[3]) *H. B. Speakman*, Journ. of biol. Chem. **64**, 51, 1925.

[4]) *M. Brauchbar*, M. **17**, 642, 1896.

[5]) *Ad. Franke*, M. **17**, 676, 1896; vgl. auch *K. Taipale*, Chem. Centralbl. **1909**, II, 1842.

städter[1]) zeigte es für Methyl-äthyl-acetaldehyd plus α, α-Methyl-äthyl-β-oxy-γ, γ-methyl-äthyl-propion-aldehyd; derselbe Autor hat beschrieben[2]), daß Formaldehyd und Methylo-methyl-äthyl-acetaldehyd sich entsprechend zu Ameisensäure und Methyl-äthyl-trimethylenglykol umsetzen.

Es folgten sodann die bekannten Untersuchungen von *W. Tischtschenko*[3]) über die *Esterkondensation der Aldehyde im wasserfreien Medium* mittels Aluminiumalkoholaten. Bei solchem Vorgehen erhielt der russische Forscher aus dem Aldehydpaar Acetaldehyd und β-Oxybuttersäurealdehyd sowohl den Essigsäureester des β-Butylenglykols als den β-Oxybuttersäureäthylester, ferner in ähnlicher Reaktion aus Propionaldehyd und 2-Methyl-3-oxyvaleraldehyd den Propionsäureester des Hexylenglykols nebst dem α-Methyl-β-oxyvaleriansäureester des Propylalkohols, des weiteren aus Isobutylaldehyd und Isobutylaldol den Isobuttersäureester des Oktoglykols. Eine Übertragung auf *einfache Aldehydpaare* hat jedoch erst *F. F. Nord*[4]) gerade im Hinblick auf das angeführte Gärungsschema, im hiesigen Institut vorgenommen und beim Acetaldehyd und Isovaleraldehyd sowie beim Isovaleraldehyd und Benzaldehyd die gekreuzte Dismutation erreicht. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten später *N. A. Orloff*[5]) und *R. Nakai*[6]).

In allen diesen Versuchen aus den letzten 30 Jahren ist aber lediglich die gemischte Reaktion *zweier Aldehyde* erreicht. Zu prüfen blieb, ob eine Dismutation *zwischen je einem Aldehyd und einem Keton* eintreten kann; denn diese ist gerade im Hinblick auf die erwähnten physiologischen Fragen nicht ohne Wichtigkeit.

Daß ein solcher Vorgang in der Natur verwirklicht wird, geht klar aus den Ergebnissen bei den *phytochemischen Reduktionen* hervor, durch die auch Ketone reduziert werden. Dies besagt nun nichts anderes, als daß eine Konkurrenz mit dem Acetaldehyd um den „Gärungswasserstoff" stattfindet, der ja selbst durch eine hydroklastische Reaktion, eine Art Dismutation, disponibel wird.

Statt der Reaktion:

$$\begin{matrix} CH_3.CO.COH & & O & = & CH_3.CO.COOH \\ + & + & \Vert & & + \\ CH_3.COH & & H_2 & & CH_3.CH_2(OH) \end{matrix}$$

kommt primär wohl die Umsetzung:

$$\begin{matrix} CH_3.CO.COH & & O & & CH_3.CO.COOH \\ + & + & \Vert & = & + \\ R.CO.R_1 & & H_2 & & R.CH(OH).R_1 \end{matrix}$$

zustande; daß dabei die betreffende Säure, nämlich die Brenztraubensäure, sekundär durch die zum System der Zymase gehörige Carboxylase vergoren wird, ist für die grundsätzliche Beurteilung der Verhältnisse gleichgültig.

---

[1]) *V. Neustädter*, M. **27**, 903, 1906.
[2]) *Derselbe*, Ann. **351**, 298, 1907.
[3]) *W. Tischtschenko*, Chem. Centralbl. **1906**, II, 1311 und 1552.
[4]) *F. F. Nord*, diese Zeitschr. **106**, 275, 1920.
[5]) *N. A. Orloff*, Bull. Soc. Chim. de France [4] **35**, 360, 1924.
[6]) *R. Nakai*, diese Zeitschr. **152**, 258, 1924.

Es ist nun auffallend, daß nach den Erfahrungen des hiesigen Instituts[1]) im allgemeinen die einfachen Ketone weit schwerer und unvollkommener phytochemisch reduzierbar sind als die isomeren Aldehyde. Die Gründe hierfür könnten thermodynamischer Art sein; jedenfalls erwarteten wir, daß die gemischte Dismutation zwischen einem Keton und einem Aldehyd nicht glatt, sondern mit mäßigen Ausbeuten vonstatten gehen würde. Das ist tatsächlich der Fall, wie uns Versuche mit *Methyl-n-propyl-keton plus Benzaldehyd* lehrten. Ersichtlicherweise kann bei gemeinsamer Dismutation der genannten beiden Carbonylverbindungen sowohl der sekundäre n-Amylester der Benzoesäure (asymmetrischer Verlauf) als Benzoesäure-benzylester (symmetrischer Verlauf) gebildet werden. Wir wählten Benzaldehyd auf Grund einer wichtigen Feststellung von *W. C. Child* und *H. Adkins*[2]); diese Autoren, denen man neue Gesichtspunkte für die Esterkondensation von Aldehyden durch die verschiedenen Metallalkoholate verdankt, haben nämlich mitgeteilt, daß Benzaldehyd unter diesen Bedingungen (Aluminiumäthylat) langsamer reagiert als aliphatische Aldehyde; bei früheren Versuchen mit Methyl-n-propyl-keton und Acetaldehyd hatten wir auch im wesentlichen nur essigsaures Äthyl und neben unverändertem Keton Kondensationsprodukte desselben von nicht esterartigem Charakter aufgefunden.

Aus Methyl-n-propyl-keton und Benzaldehyd geht in der Tat sekundärer n-Amylester der Benzoesäure hervor, aber die Geschwindigkeit der Reaktion zwischen Keton und Aldehyd ist offenbar noch geringer als die des Benzaldehyds für sich; die Hauptmenge des verwendeten Bittermandelöls lieferte nach der klassischen Reaktion Benzoesäure-benzylester, und vom Keton blieb etwa ein Drittel der nicht der Selbstkondensation anheimgefallenen Menge unverändert zurück.

Von dem benzoesauren „Amyl" erhielten wir nur recht bescheidene Ausbeuten, ad maximum 6 g aus einem Gemisch von 100 g Benzaldehyd und 100 g Methyl-n-propyl-keton. Durch fraktionierte Destillation im Vakuum läßt sich der unter Atmosphärendruck bei etwa 260° siedende Benzoesäure-sec.-n-amylester von dem bei 324° siedenden Benzoesäure-benzylester abtrennen. Die Spuren unveränderten Benzaldehyds und das unangegriffene Keton sieden wesentlich niedriger,

---

[1]) *C. Neuberg* und *A. Lewite*, diese Zeitschr. **91**, 257, 1918; *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, B. **52**, 2237, 1919; *S. Akamatsu*, diese Zeitschr. **142**, 188, 1923; *P. Santomauro*, ebendaselbst **151**, 48, 1924; *H. K. Sen*, ebendaselbst, S. 51.

[2]) *W. C. Child* und *H. Adkins*, Chem Centralbl. **1924**, I, 1504; **1925**, II, 34.

während die hochmolekularen Kondensationsprodukte des Methyl-n-propyl-ketons bei der Fraktionierung im Vakuum überhaupt nicht übergingen.

Aus der Fraktion des benzoesauren sekundären n-Amylalkohols läßt sich durch Verseifung mit wässeriger Kalilauge im geschlossenen Rohre Benzoesäure einerseits und sekundärer n-Amylalkohol andererseits gewinnen. Er wurde durch seinen Siedepunkt, die Analyse und durch die Reoxydation zu Methyl-n-propyl-keton identifiziert.

Jüngst haben *H. Meerwein* und *R. Schmidt*[1]) höchst beachtenswerte Versuche mitgeteilt, die unsere bisherigen Vorstellungen über das Wesen der *Cannizzaro*schen Reaktion erheblich modifizieren. Nach den Befunden der Autoren handelt es sich dabei in wässeriger Lösung nicht um eine Dehydrierung des einen Aldehyds auf Kosten der anderen im Sinne *Wielands*, sondern um eine halbacetalartige Vereinigung der einen Carbonylverbindung mit dem Hydrat der anderen:

$$R.CH{:}O + HO.\overset{OH}{\dot{C}H}.R \longrightarrow R.CH\begin{smallmatrix} \diagup OH \quad OH \\ \diagdown O\text{——}\overset{|}{C}H.R \end{smallmatrix}$$

$$\longrightarrow R.CH_2OH + O{=}\overset{OH}{\overset{|}{C}}.R.$$

Es erfolgt dann eine Wasserstoffwanderung und nicht, wie man früher[2]) wohl annahm, eine Sauerstoffverschiebung. Die Autoren heben hervor, daß bei ihren Versuchen zur Reduktion von Carbonylverbindungen mittels Aluminiumäthylat eine ganz weitgehende *Analogie zu den phytochemischen Reduktionsprozessen* zutage tritt. Sie haben nämlich gefunden, daß die unsubstitutierten Ketone nicht oder kaum reduzierbar sind, daß aber die Oxyketone oder Halogenketone — wie beim biologischen Vorgange, so auch in vitro — leicht angegriffen werden. Versuche zu einer gemischten Dismutation haben *Meerwein* und *Schmidt* nicht vorgenommen. Unsere Ergebnisse stehen mit ihren Vorstellungen durchaus im Einklang, auch in dem Punkte, daß durch eine einfache Reduktionswirkung des verwendeten Aluminiumäthylats etwas Benzaldehyd nebenher zu freiem Benzylalkohol reduziert wird.

Experimentelles.

In zwei Versuchen wurden je 100 g Benzaldehyd und 100 g Methyl-n-propylketon (beide frisch rektifiziert) in einem mit Chlorcalciumrohr

---

[1]) *H. Meerwein* und *R. Schmidt*, *A.* 444, 229, 1925.

[2]) *V. Meyer-Jacobson* (I, 677, 1907) formulieren:

$$R.CH\begin{smallmatrix}\diagup O \\ \vdots\end{smallmatrix} + \begin{smallmatrix}CO.R \\ H\end{smallmatrix} = R.CH\begin{smallmatrix}\diagup O\text{—}CO.R \\ \diagdown H\end{smallmatrix}.$$

verschlossenen Rundkolben vermischt und mit 30 g Aluminiumäthylat versetzt, das nach der Methode von *W. Tischtschenko* hergestellt war. Das Gemenge blieb sich 24 Stunden selbst überlassen, dann wurde es noch 4 Tage lang auf dem Wasserbade unter Fernhaltung von Feuchtigkeit erhitzt; nunmehr wurden die Reaktionsprodukte mit 3proz. Salzsäure frei gemacht und mit Äther ausgezogen. Der Ätherextrakt wurde mit verdünnter Natriumbicarbonatlösung gewaschen, über geglühtem Natriumsulfat scharf getrocknet und darauf am Birektifikator vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde einer Vakuumdestillation unterzogen, wobei unter 15 mm Druck alles, was bis 200° sott, übergetrieben wurde. Das aufgefangene Destillat wurde bei gewöhnlichem Druck abermals destilliert und lieferte dabei folgende Anteile:

Fraktion	I.	Siedepunkt	80	bis	102°	35 g
,,	II.	,,	103	,,	180°	20 g
,,	III.	,,	181	,,	253°	52 g
,,	IV.	,,	254	,,	260°	5,5 g
,,	V.	,,	261	,,	330°	40 g.

Der andere Versuch ergab ganz ähnliche Ausbeuten an den einzelnen Fraktionen.

Durch wiederholte Rektifikation der in den beiden Versuchen gewonnenen und vereinigten Fraktionen IV konnten etwa 7,0 g zwischen 255 und 258° siedender Substanz abgeschieden werden, die durch Verseifung mit wässeriger Kalilauge im Bombenrohr bei 150° 2,6 g Methyl-n-propyl-carbinol und 3,8 g Benzoesäure ergaben.

Der sekundäre Amylalkohol war durch anreichernde Destillation abgeschieden, schließlich mit Pottasche ausgesalzen und nach Trocknung über entwässertem Kupfersulfat destilliert.

Die Benzoesäure konnte aus der alkalischen Lösung nach Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure in gewohnter Weise isoliert werden.

Das Vorliegen von sekundärem n-Amylalkohol wurde außer durch den Siedepunkt 118 bis 119° durch die Analyse bestätigt.

0,1468 g Substanz: 0,3612 g CO_2 und 0,1834 g H_2O.
$C_5H_{12}O$. Ber.: C = 68,11 Proz. H = 13,73 Proz.
Gef.: C = 67,19 ,, H = 13,90 ,, .

Zur weiteren Charakterisierung des Alkohols wurde derselbe zum Methyl-n-propylketon zurückoxydiert; dies geschah mittels *Beckmann*scher Chromsäuremischung[1]).

Das aus dem Rohketon gewonnene p-Nitro-phenylhydrazon zeigte den Schmelzpunkt 108°; in der Literatur[2]) ist F. zu 106° bzw. 116° verzeichnet.

---

[1]) *E. Beckmann*, Ann. **250**, 325, 1889.

[2]) *K. Kurono*, diese Zeitschr. **134**, 432, 1923; *H. Pringsheim* u. *J. Leibowitz*, Ber. **56**, 2040, 1923; *Fr. Fischer* u. *H. Tropsch*, Ber. **56**, 2434, 1923.

Die Stickstoffbestimmung erwies die Reinheit:

0,1069 g Substanz: 17,8 ccm N_2 (18°, 750 mm).

$C_{11}H_{15}N_3O_2$. Ber.: N = 19,00 Proz.; gef.: N = 19,27 Proz.

Ob mit Hilfe des *löslichen* Aluminiumäthylats, das nach der neuen Vorschrift von *Meerwein* und *Schmidt* (l. c.) erhältlich ist, die Dismutation zwischen Keton und Aldehyd (I) in besserer Ausbeute zu erzielen ist, haben wir nicht geprüft. Es kam uns in erster Linie darauf an, im Modellversuch einen solchen Prozeß als möglich zu erweisen, der uns ja auch bei der Wirkung der Ketonaldehydmutase, bei der Dismutation von Methylglyoxal zu Milchsäure, als wichtige physiologische Umsetzung vor Augen tritt. Auch hier reagieren zwei Carbonylgruppen ungleicher Dignität (II):

$$\text{I.}\quad \begin{matrix} CH_3.CO.C_3H_7 \\ C_6H_5.COH \end{matrix} + \begin{matrix} H_2 \\ \| \\ O \end{matrix} = \begin{matrix} CH_3.CHOH.C_3H_7 + \\ C_6H_5.COOH. \end{matrix}$$

$$\text{II.}\quad \begin{matrix} CH_3.CO \\ \cdot \\ COH \end{matrix} + \begin{matrix} H_2 \\ \| \\ O \end{matrix} = \begin{matrix} CH_3.CHOH \\ \cdot \\ COOH. \end{matrix}$$

Die Metallalkoholate sind offenbar höchst milde und darum den Enzymen vergleichbare Agenzien. Sie haben wie die letzteren eine Überführung empfindlicher Aldehyde in die zugehörigen, oft gleichfalls labilen Alkohole ermöglicht, so daß mit Hilfe der Alkoholate z. B. Trichlor- und Tribrom-äthylalkohol [*Tischtschenko* und *Grigorjew*[1]), *Nakai*, l. c.], ferner Crotonalkohol, synthetisches Citronellol sowie Zimtalkohol (*Meerwein* und *Schmidt*, l. c.) leicht dargestellt werden können.

Daß die gemischte Dismutation (Esterkondensation) zwischen *Keton und Aldehyd* überhaupt stattfindet, halten wir für beachtenswert; denn bisher ist allein eine *Kondensation unter Wasserabspaltung* mit chemischen Mitteln erzielt worden. So liefert nach *C. Harries* und *P. Bromberger*[2]) Salzsäure das γ-Benzal-methylpropylketon:

$$\begin{aligned} &CH_3.CO.CH_2.CH_2.CH_3 + O:CH.C_6H_5 \\ &= CH_3.CO.C(:CH.C_6H_5).CH_2.CH_3 + H_2O, \end{aligned}$$

und verdünnte Lauge das α-Benzal-methylpropylketon:

$$C_6H_5.CHO + CH_3.CO.C_3H_7 = C_6H_5.CH:CH.CO.C_3H_7 + H_2O.$$

Das sind ganz anders geartete Vorgänge.

---

[1]) *W. Tischtschenko* und *A. Grigorjew*, Chem. Centralbl. **1906**, II, 1554.

[2]) *C. Harries* und *P. Bromberger*, Ber. **35**, 3088, 1902.

Zur Nomenklatur der Gärungsfermente und Oxydasen.

Von

Carl Neuberg und Carl Oppenheimer.

Es ist notwendig, für die ganze Gruppe einen gemeinsamen Generalnamen zu finden, der bisher nicht existiert und nicht existieren konnte, solange man die Gärungsenzyme und die Oxydationsfermente für grundsätzlich verschiedene Gruppen hielt. *Palladins* Bezeichnung als Atmungsfermente erweckte leicht falsche Vorstellungen und hat sich nicht eingeführt.

Als solchen Hauptnamen schlagen wir das Wort: „*Desmolasen*" vor. Wir wollen damit betonen, daß diese Fermente in wesenswichtigem Gegensatz stehen zu den einfach hydrolytisch spaltenden Enzymen, den *Hydrolasen*. Denn während jene nur einfache Spaltungsvorgänge an den sekundären Bindungen des Kohlenstoffs mit C oder N katalysieren, die ohne nennenswerten Gewinn an freier Energie verlaufen, beschleunigen diese Fermente Prozesse, welche die entscheidend wichtigen *Kohlenstoffbindungen* voneinander trennen, die zwischen Kohlenstoffatomen „Bindungen lösen", die *Desmolyse*[1]) im Gegensatz zur *Hydrolyse* herbeiführen. Wesentlich dabei ist auch der Unterschied, daß diese Vorgänge in ihrer *Gesamtheit* unter *Abgabe* freier Energie verlaufen. Die *Desmolasen* sind also die eigentlichen *Stoffwechselfermente*; sie befördern die Ausschlag gebenden Vorgänge, in denen die Zelle sich die chemische Energie der ihr zugeführten Nährstoffe oder auch der eigenen Leibessubstanz nutzbar macht, sie in andere Energieformen, vor allem Wärme und mechanische Leistung umsetzt. Für diese Handlungen sind die Wirkungen der Hydrolasen nur eine allerdings unumgängliche Vorbereitung. Die *Gruppe der Desmolasen* enthält also *alle* Einzelenzyme, die an der Katalyse dieser abbauenden Vorgänge beteiligt sind.

---

[1]) *δεσμός*, Band, *λύειν*, lösen.

Sie umfaßt demnach als Hauptvertreter jene Enzyme, die an den Verschiebungen von *Sauerstoff und Wasserstoff* Anteil haben und zunächst zur Auflockerung der Moleküle, zur Ausbildung von *Carboxylgruppen* einerseits, von *reduzierten Phasen* andererseits dienen. Diese wesentliche Teilgruppe der Desmolasen bezeichnen wir als *Oxydoredukasen* oder mit *Wieland* als *Dehydrasen.*

Reine „*Redukasen*" gibt es nicht, jeder reduzierenden (hydrierenden) Reaktionsphase steht eine dehydrierende gegenüber. Wir schlagen also vor, den Namen *Redukase* völlig zu beseitigen. Reine *Oxydasen* können nur in solchen Systemen vorliegen, die *Sauerstoff aktivieren,* also in der Hauptsache in den *Warburg*schen Eisensystemen. Den Namen *Peroxydasen* für die Reaktionen mit H_2O_2 lassen wir bestehen, da die Verhältnisse bei diesen Enzymen noch nicht völlig geklärt sind.

Außer diesen eigentlichen Oxydoredukasen enthält aber die Gruppe der *Desmolasen* noch eine unbekannte Anzahl weiterer wichtiger Enzyme. Die Oxydoredukasen greifen nämlich anscheinend niemals die Nähr- und Zellstoffe in unveränderter Form an, es müssen wohl besondere Prozesse vorhergehen, die noch zum großen Teil im Dunkeln liegen. Für die supponierten Enzyme, welche diese ersten Teilprozesse katalysieren, schlagen wir den nichts vorwegnehmenden Ausdruck „*Enzyme des ersten Angriffs*" vor.

An die Wirkung der Oxydoredukasen schließen sich weiterhin an die *Carboxylase* als das Enzym der *terminalen Desmolyse,* einer endgültigen Trennung der C—C-Kette durch CO_2-Abspaltung, ferner die *Carboligase,* welche synthetische Prozesse — sei es als Endreaktionen oder als Zwischenreaktionen im Abbau — vermittelt, und die *Katalase,* die im einzelnen noch unsichere regulierende Funktionen ausübt. An diesen eingeführten Namen soll natürlich nichts geändert werden.

Unter den Oxydoredukasen können wir schon eine Reihe von *Einzelgruppen* nach ihrer Substratspezifität unterscheiden, die wir nun in üblicher Weise nach diesen Substraten benennen wollen. Am wichtigsten sind hier wohl die Enzyme, welche Aldehyde dehydrieren. Da wir als leitende Hypothese voraussetzen wollen, daß es dieselben Fermente sind, welche die Aldehyde dehydrieren, gleichgültig, ob als Akzeptor Aldehyde selbst (*Dismutation*) oder andere Akzeptoren (*phytochemische Reduktionen, Schardinger-Reaktion*) dienen, oder ob endlich Sauerstoff eintritt, so schlagen wir vor, den Namen *Mutasen* fallen zu lassen und die betreffenden Enzyme in geringer Abänderung des früheren Namens Aldehydasen (*M. Jacoby*) einfach als *Aldehydrasen* zu bezeichnen. Sofern schärfere *Spezifitäten* ausgedrückt werden sollen, kann man ohne weiteres mit *Acetaldehydrase, Benzaldehydrase* usw. näher differenzieren. Ob die Reaktion, welche aus Methylglyoxal

Milchsäure liefert und die zunächst als intramolekulare Dismutation imponiert, mit den sonstigen Dehydrierungen der Aldehyde nahe zusammenhängt oder eine Reaktion für sich ist, wissen wir noch nicht; deshalb sei die von einem von uns früher vorgeschlagene Benennung *Ketonaldehydmutase* vorläufig beibehalten.

Die sonstigen dehydrierenden Enzyme wären am besten ebenfalls einfach vom Substrat mit ... drase abzuleiten. Jedes Mißverständnis in bezug auf entsprechende Hydrolasen wird ausgeschlossen, wenn man den vollen Namen Dehydrase mit Voransetzung des Substrats benutzt, z. B. *Succinodehydrase*, *Xanthindehydrase*.

Die eingeführten Namen *Phenolasen* und *Tyrosinasen* aber können natürlich bestehen bleiben, ebenso *Aminoacidasen*.

Um nun zur wichtigsten Gruppe der *Enzyme des Zuckerabbaues* überzugehen, schlagen wir vor, den klassischen Namen *Zymase* (*Buchner*) beizubehalten als einen *Sammelbegriff aller der hier in Betracht kommenden Enzyme.* Zymase würde dann also enthalten:

1. Die *Enzyme des ersten Angriffs.* Diese bestehen hier aus dem unbekannten Enzym, das wirklich die Hexose ergreift, d. h. ihre alloiomorphe Modifikation (am-Hexose nach *Neuberg* und *Kobel*) erzeugt. Es ist demnach als eine *Hexase* zu bezeichnen.

2. Das *System der Phosphatbindung* und *Phosphatlösung.* Hier kennen wir die Enzyme *Phosphatesen* (*v. Euler*) und *Phosphatasen* (*Harden*), die nach den einzelnen Zymophosphaten verschieden sein könnten. Es bleibt unentschieden, ob die Agenzien 1 und 2 gleichzeitig angreifen, oder in welcher Reihenfolge.

3. *Aldehydrasen.*

4. *Ketonaldehydmutase.*

5. *Carboxylase.*

Hierzu kommt

6. die *Carboligase*, die eventuell bei der Resynthese oder ähnlichen Aufbaureaktionen in Tätigkeit tritt. Außerdem findet sich aber im Gesamtkomplex der Zymase noch ein für den ersten Angriff unentbehrliches thermostabiles Agens (*Harden*), ohne das die Zymase nicht wirkt. Wir empfehlen deshalb, den Fermentkomplex ohne dieses Agens als *Apozymase* (*Neuberg*) zu bezeichnen, das ergänzende Agens als *Cozymase* (*v. Euler*), beide zusammen als Zymase.

Nur das *Harden*sche Agens ist als Cozymase, d. h. als ein Coenzym der alkoholischen Gärung und der ihr verwandten Zuckerspaltungen, zu bezeichnen; es ist grundsätzlich zu trennen von allen sonstigen *Aktivatoren der Gärung oder des Zuckerabbaues* überhaupt

(chemisch definierten Substanzen mit Carbonyl-, Chinon-, Disulfid- oder Stickstoff-Sauerstoff-gruppen und Biokatalysatoren), soweit letztere nicht mit der Cozymase identisch sind.

Als *glykolytisches Ferment* wollen wir nur noch den Komplex von Partialfermenten der Zymase betrachten, der nichts anderes bewirkt als den ersten Angriff auf die Hexosen und die Überführung in Milchsäure; er enthält in wirksamer Form also außer den Hexasen und dem Phosphorylierungssystem nichts, was über die Leistung der Ketonaldehydmutase hinausgeht. Das glykolytische Ferment dominiert also im anoxybiontischen Abbau der tierischen Zellen und zahlreicher Bakterien.

Über die Essiggärung und die chemischen Leistungen der Essigbakterien.

Von

Carl Neuberg und **Fritz Windisch.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Von den Gärungsvorgängen, denen in der Natur eine so bedeutende Rolle zukommt, sind drei Formen von alters her für die unmittelbaren Lebensbedürfnisse der Menschen verwertet worden: die Milchsäuregärung, die alkoholische Zuckerspaltung und die Essiggärung.

Die drei Erscheinungen bieten zugleich auch das allergrößte wissenschaftliche Interesse.

Im folgenden wird von neuen Einblicken in das Wesen der Essiggärung und von Untersuchungen berichtet, die mit dem Prozeß der Essiggärung in Beziehung stehen.

Seit frühen Zeiten dienen als Ausgangsmaterial für die Gewinnung von Essig auf biologischem Wege alkoholhaltige Flüssigkeiten, die durch geistige Gärung aus Kohlenhydraten gebildet sind; eine reiche Auswahl ist in Wein und anderen Fruchtsäften oder in den verschiedenen Branntweinsorten gegeben.

Die chemische Reaktion, die sich beim Übergang von Äthylalkohol in Essigsäure abspielt, trägt scheinbar ein überaus einfaches Gepräge. Es handelt sich bei ihrer Verwirklichung um die typische Überführung eines primären Alkoholrestes in die Carboxylgruppe, um jenen Vorgang, der maßgeblich die Entwicklung der organischen Chemie in theoretischer und präparativer Hinsicht beeinflußt hat. Die Umwandlung von Äthylalkohol in Essigsäure wird ausgedrückt durch die Formulierung:

$$CH_3 . CH_2OH + O_2 = H_2O + CH_3 . COOH.$$

Auf *Davy*, *Fourcroy* und *Vauquelin*, *Döbereiner* sowie namentlich auf *Liebig* geht der Befund zurück, daß bei rein chemischer Oxydation von Äthylalkohol unter bestimmten Bedingungen statt Essigsäure eine niedere Oxydationsstufe erhalten werden kann, der Acetaldehyd,

$CH_3.COH$. Ob dieser Stoff, der auch im Reagenzglase keineswegs immer auftritt, bei biologischer Oxydation von Weingeist zu Essig etwa als ein Zwischenglied entsteht, war nicht festgestellt. Selbst die Frage nach dem eigentlichen Mechanismus der Essiggärung war bis vor wenigen Jahren nicht aufgeworfen. Man hat nicht genügend beachtet, daß trotz äußerer Ähnlichkeit im Verlauf der chemischen und biologischen Essigsäurebildung doch sehr wesentliche Unterschiede obwalten. So vollzieht sich z. B. die katalytische Oxydation von Alkoholen an Platinschwarz unspezifisch; außerdem steigt der Ertrag an Säure mit zunehmender Konzentration des Alkohols und mit Erhöhung der Temperatur. Das sind Verhältnisse, von denen die Bedingungen des physiologischen Vorgangs sehr abweichen.

Im Jahre 1807 hatte *Chaptal* die Beobachtung gemacht, daß die Säuerung alkoholischer Flüssigkeiten an der Luft mit dem Wachstum von Häuten an der Oberfläche der Lösungen einhergeht. Gestützt auf die Angaben von *Lavoisier* und *Döbereiner*, daß bei der rein chemischen Bildung von Essigsäure von dem in Umwandlung begriffenen Alkohol Sauerstoff verbraucht wird, verlegte *Berzelius* (1829) den Ort der katalytischen Sauerstoffübertragung in die Schicht jener hautartigen Gebilde. 30 Jahre nach *Chaptal* hat *Kützing* als Bestandteil dieser Häute die Essigbakterien entdeckt. *Pasteur* hat die große Verbreitung der Essigbakterien in der Natur erkannt und ihre Mitwirkung bei der Umwandlung des Äthylalkohols in Essigsäure als einen physiologischen Prozeß über jeden Zweifel erhoben. Viele mühselige und geistvolle Arbeiten sind der Aufklärung der Essiggärung gewidmet worden. Erinnert sei nur an die Untersuchungen von *Beijerinck*, *Bertrand*, *Brown*, *Buchner*, *Gaunt*, *Hansen*, *Henneberg*, *Hoyer*, *Kluyver*, *Lafar*, *Liebig*, *Meisenheimer*, *Nägeli*, *Rothenbach*, *Seifert*, *Söhngen*, *Schützenbach*, *Visser 't Hooft*, *Waterman*, *Wieland*, *Wüstenfeld* u. a.

Diese Untersuchungen haben Klarheit geschaffen über die morphologischen Eigenschaften der vielen verschiedenen Essigsäurebildner und über ihre Stellung im System der Mikroorganismen. Sie haben ferner unsere Kenntnisse von der Leistungsfähigkeit der Essigsäurebakterien erweitert; sie haben gelehrt, daß die oxydierende Kraft wenigstens bei einem Teile der Erreger sich nicht nur gegenüber dem Weingeist geltend macht, sondern sich auch gegen einzelne wenige Homologe und gegen Säuren, mehrwertige Alkohole sowie Polyhydroxylverbindungen der Zuckerreihe von eng umschriebener Struktur äußern kann.

Die erwähnte einfache Formulierung der Oxydation von Äthylalkohol zu Essigsäure ist auch in bezug auf den erwähnten biologischen Vorgang in den Lehrbüchern sowie in den Spezialwerken enthalten, die sich mit der Essiggärung befassen.

Im Jahre 1919 haben *Neuberg* und *Nord*[1]) gezeigt, daß *bei der Essiggärung des Äthylalkohols in beträchtlichen Mengen Acetaldehyd* zutage gefördert werden kann, wenn *mit Hilfe des Abfangverfahrens* dieser Stoff seinem Schicksal als sonst schnell durcheilter, nicht faßbarer Zwischenstufe entrissen wird. Bei der Vergärung von Weingeist sowohl durch das Bacterium ascendens als durch das Bacterium pasteurianum war den Genannten die Fesselung des Zwischengliedes Acetaldehyd gelungen. Gleichzeitig haben *C. Neuberg* und *F. F. Nord*[2]), sowie *C. Neuberg, F. F. Nord* und *E. Wolff*[3]) bei analogen Versuchen mit dem Bacterium coli und dem Bacterium lactis aerogenes, unter Bezugnahme auf *C. Oppenheimer*, erwogen, ob die Essigbildung bei demjenigen Teile der Vergärungen, der mit der typischen Essigsäuregärung verglichen werden kann, durch die *Dismutation* des als Zwischenprodukt nachgewiesenen Acetaldehyds gedeutet werden kann. Unter Berufung auf die Feststellungen von *Neuberg* und Mitarbeitern hat dann auch *F. Czapek*[4]) (1921) die Frage berührt, ob nicht etwa die Aldehydbildung bei der Essiggärung die Hauptreaktion darstelle und die sich anschließende Dismutation die Entstehung der Essigsäure bedinge. Über derartige Hypothesen, die betreffs der Zersetzung von Zucker durch B. pyocyaneus, coli oder subtilis unter Verwertung des *Neuberg*schen Gärungsschemas dann auch von *E. Aubel, J. Supniewski* und *O. Acklin* geäußert wurden[5]), ist jedoch die Forschung nicht hinausgekommen.

Die experimentelle Prüfung, welche die Auffassung vom Wesen dieses Vorganges entscheidend beeinflussen mußte, haben wir vorgenommen[6]).

Da immerhin — wenn auch ohne eigentliche Berechtigung — der Einwand denkbar gewesen wäre, daß die Bildung von Acetaldehyd bei der Essiggärung unter dem Einfluß eines Abfangmittels eine Notreaktion der Erreger darstelle, etwa zum Zwecke der Entgiftung des vorhandenen Abfangmittels durch dessen Bindung an Acetaldehyd, so *war als Grundlage darüber Klarheit zu schaffen, ob Essigbakterien aus Acetaldehyd* überhaupt *Essigsäure erzeugen.*

---

[1]) *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, diese Zeitschr. **96**, 158, 1919; dort auch die Literaturnachweise über die mit diesem Gegenstand zusammenhängenden Fragen.

[2]) *Dieselben*, ebendaselbst **96**, 133, 1919.

[3]) *C. Neuberg, F. F. Nord* und *E. Wolff*, ebendaselbst **112**, 144, 1920.

[4]) *F. Czapek*, Biochemie der Pflanzen III, 120, 1921.

[5]) *E. Aubel*, Chem. Centralbl. **1923**, III, 1286; *J. Supniewski*, diese Zeitschr. **154**, 96, 1924; *O. Acklin*, ebendaselbst **164**, 369, 1925.

[6]) Vgl. den kurzen Bericht von *C. Neuberg*, Klin. Wochenschr. **1925**, 26. März.

Bringt man Essigsäurebakterien in eine verdünnte Lösung von Acetaldehyd, so wird dieser unter Säurebildung in kurzer Zeit restlos zum Verschwinden gebracht.

Die Veränderung, die der Acetaldehyd erleidet, kann ersichtlicherweise auf doppelte Art zustande kommen: Der Acetaldehyd, der im Vergleich mit dem Äthylalkohol ein Oxydationsprodukt darstellt, kann durch weitere Sauerstoffaufnahme unmittelbar Essigsäure ergeben. Es ist aber nach den Erfahrungen bei der alkoholischen Gärung ebensogut möglich, daß die Umwandlung auf dem Wege der Dismutation erfolgt, d. h. daß zwei Moleküle Acetaldehyd nach dem Schema der Dismutationsreaktion äquimolekulare Mengen von Weingeist und Essig liefern:

$$\begin{array}{c} CH_3.COH \\ + \\ CH_3.COH \end{array} + \begin{array}{c} H_2 \\ \| \\ O \end{array} = \begin{array}{c} CH_3.CH_2OH \\ + \\ CH_3.COOH. \end{array}$$

Weil mit dem Falle zu rechnen war, daß die stark Sauerstoff übertragenden Essigbakterien den durch *Dismutation*[1]) von Acetaldehyd gebildeten Weingeist sofort wieder angreifen und damit dem Nachweis entziehen, wurde eine *Serie von Versuchen unter Luftabschluß* angestellt.

Dabei genügt folgendes einfache Vorgehen: Die in Bierwürze gewachsenen Erreger werden direkt, die auf Bierwürze-Agar gezüchteten Erreger werden nach Abschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung zentrifugiert und dreimal gründlich mit Kochsalzlösung auf der Zentrifuge gewaschen. Eine etwa 7 g Trockensubstanz entsprechende Menge der Bakterien wird dann in 1 Liter physiologischer Kochsalzlösung suspendiert; nach Zugabe von etwa 10 g Calciumcarbonat ist mit Kohlendioxyd oder auch mit Stickstoff zu sättigen. Nunmehr werden 2 g Acetaldehyd in das Gemisch eingebracht, das sich in einer Glasstöpselflasche befindet. Diese wird mit Hartparaffin abgedichtet und umgekehrt in eine Quecksilberwanne gestülpt derart, daß der Hals vollkommen untertaucht. Die an einem Stativ befestigte Apparatur verbleibt im Brutschrank bei 35 oder 37°. Nach 18 Stunden ist der Acetaldehyd vollständig verbraucht.

Bei der geschilderten Versuchsanordnung wird der Luftsauerstoff in ausreichendem Maße ferngehalten. *Die quantitative Aufarbeitung lehrt, daß mit einer wunderbaren Genauigkeit aller Acetaldehyd in Essigsäure und Äthylalkohol umgewandelt wird, und daß beide Produkte dabei in molekularem Verhältnis auftreten.* In gleichzeitig angestellten Kontrollversuchen, bei denen dieselbe Menge Acetaldehyd in ebensoviel Koch-

---

[1]) Wir wollen nicht unerwähnt lassen, daß die ersten Beobachtungen einer dismutierenden Wirkung von Essigbakterien vor $1\frac{1}{2}$ Jahren gemeinsam von *P. Mayer* und *C. Neuberg* gemacht worden sind.

salzlösung bei Gegenwart von Calciumcarbonat aber ohne Bakterien unter „anaeroben“ Bedingungen digeriert wurde, konnte die angewendete Menge von Acetaldehyd unverändert wiedergefunden werden; ohne das biologische Agens blieb die Dismutation des Acetaldehyds aus.

Damit ist zunächst bewiesen, daß die Essigsäurebakterien in ganz besonders hohem Maße befähigt sind, die Dismutation des Acetaldehyds zu bewirken, und zwar gilt dieses in gleicher Weise von drei verschiedenen Arten, die wir herangezogen haben: B. ascendens (Weinessigbakterium), B. pasteurianum (Bieressigbakterium), B. xylinum (Schleimessigbakterium). Die *getrockneten Bakterien* verhalten sich wie die frischen Erreger; in ihnen ist das Agens der Dismutation, das man in Wandlung eines Vorschlages von *M. Jacoby*[1]) als Aldehydrase[2]) bezeichnen kann, offenbar erhalten.

Alle Versuche sind unter Wahrung völliger Sterilität durchgeführt worden. Beträchtliche Schwierigkeiten verursachte die Beschaffung einwandfreien Bakterienmaterials; das ergibt sich allein schon aus dem Umstande, daß zu jedem Versuch rund 7 g Bakterien-Trockensubstanz dienten, und daß zu ihrer Gewinnung 90 große *Drigalski*-Schalen mit Würze-Agar (Oberfläche = 28338 qcm) sowie 9 Liter flüssige Würze gleichzeitig in Kultur genommen werden mußten. Die glückliche Bewältigung einer solchen Aufgabe in Dutzenden von Ansätzen erfordert nicht geringe Mühen.

Beim Übergang von Acetaldehyd in Weingeist und Essigsäure handelt es sich um eine sogenannte hydroklastische Reaktion, d. h. um eine Oxydation und Reduktion, die sich formal auf Kosten der Elemente des Wassers abspielt. Bei dieser Oxydo-Reduktion braucht, namentlich nach den neuen Anschauungen von *Meerwein* und *Schmidt*[3]) über das Wesen der *Cannizzaro*schen Reaktion, kein Sauerstoff aktiviert zu werden. Durchaus im Einklange hiermit und der bekannten Theorie von *O. Warburg* haben wir in der vorliegenden Arbeit *festgestellt, daß die biologische Dismutation auch in Gegenwart von Kaliumcyanid völlig ungehindert abläuft,* selbst bei Herstellung eines beträchtlich alkalischen Milieus. Eine Addition von HCN an Acetaldehyd (Nitrilbildung) fällt unter den obwaltenden Bedingungen nicht ins Gewicht; auch eine andere stöchiometrische Verwendung des Cyanids, für die vor Jahren *W. Windisch*[4]) viele betreffende Beispiele angeführt hat, spielt keine Rolle. Die Blausäure wird übrigens von den stark oxydierenden Bakterien nicht zerstört, sondern ist am Schluß der Versuche noch vorhanden. Ein Übergang von Acetaldehyd in Acetaldol, der

---

[1]) *M. Jacoby*, H. **30**, 136, 1900.

[2]) *C. Neuberg* und *C. Oppenheimer*, diese Zeitschr. **166**, 450, 1925.

[3]) *H. Meerwein* und *R. Schmidt*, Ann. **444**, 229, 1925.

[4]) *W. Windisch*, Dissertation. Berlin 1887.

in vitro in charakteristischer Weise durch Cyanid begünstigt wird[1]), tritt in unseren biochemischen Experimenten nicht ein.

Unter normalen Verhältnissen leben die Essigbakterien in einem sauren Medium, dessen Wasserstoffionenkonzentration jedenfalls sehr viel größer ist als die einer Calciumbicarbonat enthaltenden physiologischen Kochsalzlösung ($p_H = 6{,}9$). Die Essigbakterien verbrauchen für gewöhnlich bei ihrer Betätigung eine gewaltige Menge Sauerstoff; die Höhe der Sauerstoffzehrung für 36 Stunden beziffert *Duclaux* auf das 500fache des Körpergewichts. Es war demnach der Einwand möglich, daß die Entstehung von Essigsäure auf dem Dismutationswege eine Leistung der Erreger unter dem Zwange der gewählten atypischen Versuchsbedingungen darstelle. Sie ertragen dieselbe freilich anstandslos. Die mit dem für sie als besonders giftig geltenden[2]) Acetaldehyd in Berührung gewesenen Bakterien sind nach Vollbringung der Dismutationsleistung ohne weiteres fortzüchtbar und nicht sichtlich geschädigt.

Es wurde nun in weiteren Ansätzen das Calciumcarbonat fortgelassen. Um durchsichtige Verhältnisse zu schaffen, haben wir dabei ebenfalls von irgend einem Nährmedium Abstand genommen und wiederum die gut mit Kochsalzlösung gewaschenen Bakterien verwendet. Es ergab sich, daß die Essigbakterien auch ohne Gegenwart von kohlensaurem Kalk die quantitative Dismutation unter Luftabschluß in 24 Stunden besorgen. Dabei tritt saure Reaktion ein, indem gerade die Hälfte des angewendeten Acetaldehyds in Essigsäure übergeht.

Damit war bewiesen, daß ein Säure abstumpfendes Mittel bei der biologischen Reaktion nicht erforderlich ist, sondern daß die Dismutation auch im sauren Milieu erfolgt, wie es unter den Verhältnissen der natürlichen Essiggärung herrscht.

Weingeist wie Essigsäure, die dismutativ gebildet sind, können grammweise in Substanz isoliert werden.

Bei Luftzutritt wird gleichfalls der Dismutationsweg zur Erzeugung von Essigsäure eingeschlagen. Dies ließ sich (mit Hilfe des Bacterium ascendens) unter Benutzung eines kleinen Kunstgriffes zeigen. Um die Schnelligkeit der biologischen Alkoholoxydation zu vermindern, wurde ein Trockenpräparat der Erreger verwendet, das durch Aufstreichen der steril gezüchteten und gesammelten Bakterien auf Tontellern gewonnen worden war. In diesem Zustande verarbeitet das Bakterium (13,0 g) den Acetaldehyd (1,0 g) in physiologischer Kochsalzlösung ganz glatt. Aber infolge der zweifelsohne vorhandenen Schädigung und vielleicht auch wegen des zugleich herrschenden Mangels

---

[1]) *Consortium f. elektrochem. Industrie,* Chem. Centralbl. 1914, I, 716.

[2]) *W. Hoffmann,* Gärungsessig, S. 43. Halle 1915.

an eigentlichen Nährstoffen verläuft die Dismutation schneller als die Reoxydation des durch Dismutation gebildeten Alkohols. Nach 9 Stunden, innerhalb deren die große Bakterienmenge allen Aldehyd umgesetzt hatte, konnte noch die Hälfte des dismutativ entstandenen Weingeistes nachgewiesen werden. Unter den aeroben Bedingungen waren vom angewendeten Acetaldehyd 75 Proz. in Essigsäure übergegangen und noch 25 Proz. Alkohol, also 50 Proz. der theoretischen Menge, zu fassen.

Damit ist bewiesen, daß eine Art der für die industrielle Schnellessigerzeugung häufig angewendeten Essigbakterien unter aeroben Verhältnissen Essigsäure auf dem Dismutationswege hervorbringt.

Den bei der technischen Essiggärung vielfach beobachteten und von *A. Janke* und *E. Bauer*, *H. Wüstenfeld* sowie *G. J. Fowler* und *V. Subramaniam* sorgfältig studierten[1]) Angriff der gebildeten Essigsäure, die sogenannte „Überoxydation", haben wir niemals wahrgenommen. Vermißt haben wir auch carboligatische Umwandlungsprodukte des Acetaldehyds (Acetoin und Butylenglykol), sowohl bei Zutritt als Abschluß von Luft.

Wie erwähnt, sind Essigbakterien befähigt, einzelne andere Alkohole anzugreifen. Es gelang, *die Dismutation auch bei höheren Aldehyden mit den gleichen Erregern* durchzuführen. Ohne weiteres glückte dies beim n-Butylaldehyd, $CH_3 . CH_2 . CH_2 . COH$, und beim Iso-valeraldehyd, $(CH_3)_2CH . CH_2 . COH$. Unter aeroben und anaeroben Verhältnissen liefern sie den entsprechenden Alkohol sowie Säure.

Orientierende Versuche wurden auch mit einem Oxyaldehyd, dem Glycerinaldehyd, ausgeführt. Es ergab sich, daß diese zuckerähnliche Substanz vom Bacterium ascendens angegriffen und restlos zum Verschwinden gebracht wird. Als Umwandlungsprodukt wurde Glycerin nicht gefunden; möglicherweise war Glycerinsäure vorhanden.

Daß der Isovaleraldehyd auch bei Luftzutritt dismutiert wird, steht im Einklange mit der Erfahrung, daß die Essigbakterien den Amylalkohol nicht angreifen; die eigentliche Alkoholoxydase, die ja die Überführung in den entsprechenden Aldehyd zuwege bringt, scheint viel wählerischer zu sein als die Acetaldehydrase. Auch bei anderen Bakterien[2]), die keinen ausgeprägten oxydativen, d. h. zu den Endprodukten der Verbrennung führenden Stoffumsatz aufweisen, konnten wir die vermutete Fähigkeit zur Dismutation von Aldehyden

[1]) *A. Janke* und *E. Bauer*, Chem. Centralbl. **1916**, **I**, **1205**; *H. Wüstenfeld*, ebendaselbst **1916**, II, 702; *G. J. Fowler* und *V. Subramaniam*, Journ. of Indian Instit. of Science **6**, 160, 1923.

[2]) *C. Neuberg*, Vom Zuckerumsatz der pflanzlichen Zelle in *C. Oppenheimer*, Handb. d. Biochem., 2. Aufl., II, 480, 1924; *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **162**, 490, 1925.

sicher nachweisen. *Bacterium coli*, *Bacterium lactis aerogenes*, der *Bacillus propionicus dismutieren beispielsweise zugefügten Acetaldehyd in quantitativem Ausmaß*. Das zeigt die weite Verbreitung der Aldehydrase im Reiche der Bakterien.

Die große Entdeckung von *F. Battelli* und *L. Stern*[1]), denen man die Auffindung der Aldehydrase in tierischen Zellen verdankt, erlangt damit eine universelle Bedeutung. Die Fähigkeit zur Dismutation intermediär entstehender Carbonylverbindungen kann heute als eines der wichtigsten katalytischen Hilfsmittel der Zelle gelten; sie bedient sich desselben für die Verarbeitung von Aldehyden oder Ketonaldehyden, mit denen sie beim Ablauf ihres Stoffwechsels in stete Berührung kommt.

Bei weiterer Ausdehnung der vorliegenden Versuche wurde *gefunden, daß bemerkenswerterweise Essigbakterien auch aus der biologischen Vorstufe des Acetaldehyds, aus Brenztraubensäure* ($CH_3 . CO . COOH$), *quantitativ und genau gemäß der Dismutationsreaktion Äthylalkohol und Essigsäure bilden.* Sie oxydieren also nicht etwa wie der im Wasserstoffsuperoxyd vorhandene aktive Sauerstoff[2]) direkt die Brenztraubensäure zu Essigsäure, vielmehr decarboxylieren sie zunächst und verarbeiten den carboxylatisch abgespaltenen Acetaldehyd dann in der hier als typisch erkannten Weise. *Das Gleiche gilt betreffs der Oxalessigsäure* ($COOH . CH_2 . CO . COOH$), die ebenfalls die theoretisch mögliche Menge Weingeist und Essigsäure nach doppelter Decarboxylierung auf dem Wege über den Acetaldehyd liefert. Daß *vorher eine Carboxylase der Essigbakterien in Wirksamkeit* tritt, läßt sich zeigen, indem die Dismutationsreaktion durch eine Hilfsmaßnahme ausgeschaltet wird, nämlich durch Einleitung des Abfangverfahrens. Dann gelangt man zu einer Ausbeute von mehr als 88 Proz. an stabilisiertem Acetaldehyd.

Da die Essigbakterien Zucker nicht desmolysieren[3]), so stellen sie ein neues und willkommenes *Material für das Studium zymasefreier Carboxylase* dar.

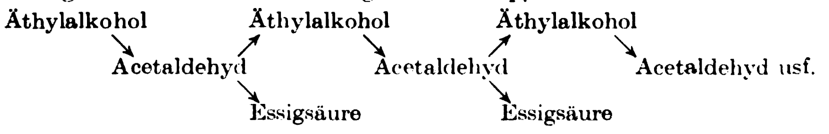
Betrachtet man die Dinge von einem anderen Gesichtspunkt aus, so bieten die Verhältnisse in gewisser Hinsicht eine interessante Parallele zu den Vorgängen bei der alkoholischen Gärung. Liefert der Zucker bei zymatischem Abbau Alkohol und Kohlensäure, so ergeben Brenztraubensäure nebst Oxalessigsäure mit den Essigbakterien Alkohol und Essigsäure. Wie man bei der alkoholischen Zuckerspaltung mit einem Abfangmittel den Acetaldehyd als unzweifelhafte Durchgangsstufe

---

[1]) *F. Battelli* und *L. Stern*, C. r. Soc. Biol. **67**, 419, 1909; **68**, 742, 1910; **69**, 162, 1910.
[2]) *A. F. Holleman*, Chem. Centralbl. **1904**, II, 194.
[3]) *C. Neuberg* und *C. Oppenheimer*, l. c.

estlegen kann, so ist dies auch bei der Essiggärung der beiden genannten α-Ketosäuren möglich, die in ihrer biologischen Wertigkeit dem Zucker verwandt sind.

Die Bildung von Alkohol durch Essigbakterien bedeutet scheinbar eine Umkehr ihrer natürlichen Funktion. Aber die Essigsäure entsteht auf dem Gärungswege gar nicht direkt aus Äthylalkohol und auch nicht durch eine unmittelbare Oxydation des Acetaldehyds. Die Natur schlägt eben einen merkwürdigen *Zickzackpfad* ein:



Wir gelangen zu einer Aufteilung des alten Begriffs der Alkoholoxydase. Dieser muß Anwendung finden auf das Agens, das die Oxydation des Alkohols zum Aldehyd besorgt. Die Weiterverarbeitung geschieht, wenigstens bei den einfacheren Carbonylverbindungen, mit Hilfe der Dehydrasen. Dabei wird der durch Oxydation des Weingeistes gebildete Acetaldehyd hälftig in Essigsäure *und* Äthylalkohol umgewandelt. Man wird sich daran gewöhnen müssen, mit der — von rein chemischen Überlegungen ausgehenden — Annahme zu brechen, daß alle Aldehyde durch die biologischen Agenzien unmittelbar oxydiert werden. Sicherlich wird vielfach das Verfahren der Dismutation eingeschlagen. Die Dismutation ist ein deutlich exothermer Prozeß, also mit Energiegewinn verbunden. Es läßt sich vorläufig nichts über die Gründe aussagen, die für die Organismen maßgebend sind, den Weg des kleineren Potentialhubs zu wählen. Daß der Acetaldehyd statt direkter Oxydation der Dismutation unterworfen wird, also einer Reaktion, die den synthetischen Prozessen näher steht als den Abbauvorgängen, entspricht den Erfahrungen, die über die vielseitige Verwendung jenes in der belebten Natur so häufig gebildeten Stoffes nunmehr gesammelt worden sind.

Experimenteller Teil.

I. Züchtung und Vorbereitung der verwendeten Bakterienarten.

A. Herstellung der Nährböden.

a) Flüssige Nährböden.

α) *Bierwürze.* Die von der Brauerei gelieferte Würze wurde sterilisiert (dreimal je 2 bis 3 Stunden), filtriert, auf 8° *Balling* eingestellt und wiederum dreimal je 1 bis 1½ Stunden sterilisiert.

β) *Fleischextrakt-Bouillon.* In Leitungswasser wurden in der Wärme 7,5 Proz. *Liebig*scher Fleischextrakt und 1 Proz. Pepton-Witte gelöst. Durch Soda wurde eine schwach alkalische Reaktion hergestellt. Die filtrierte Flüssigkeit wurde im Dampftopf dreimal je 1 bis 1½ Stunden sterilisiert.

b) Feste Nährböden.

α) *Bierwürze-Agar.* Filtrierte Bierwürze von 8° *Balling* wurde mit 2,5 Proz. Agar versetzt, dann wurde bis zur Lösung gekocht, durch Gaze filtriert und im Dampftopf dreimal je 1 bis 1½ Stunden sterilisiert.

β) *Fleischextrakt-Agar.* Zu der schwach alkalischen Fleischextrakt-Bouillon wurden 2,5 Proz. Agar gegeben. Nach Kochen auf freier Flamme bis zur Lösung wurde durch Gaze filtriert und im Dampftopf je 1 bis 1½ Stunden sterilisiert.

γ) *Spezialnährboden für B. propionicus.* Zu je 1 Liter verflüssigten Fleischextrakt-Agars wurden 2 g Dikaliumphosphat und 3,4 g milchsaures Calcium gefügt; dann wurde dreimal im Dampftopf je 1 bis 1½ Stunden sterilisiert.

B. Züchtungen.

a) Beimpfungen mit B. ascendens, B. pasteurianum, B. lact. aerogenes, B. coli, B. propionicus.

Die *festen Nährböden* wurden im Dampftopf verflüssigt und in große (bei 160° während 1½ Stunden entkeimte) Drigalskischalen ausgegossen. Nach dem Erstarren des Nährbodens wurden die Schalen mit einigen Tropfen einer dichten Aufschwemmung der zu züchtenden Bakterienart beschickt, die mittels sterilen Glasspatels über die ganze Platte verteilt wurden. Die so hergerichteten Gefäße wurden darauf im Brutschrank bei der entsprechenden Temperatur belassen.

Die *flüssigen Nährböden*, welche in 2 bis 3 Liter fassenden Jenenser Kolben sterilisiert waren, wurden ebenfalls mit der Kulturaufschwemmung beschickt, und zwar pro Kolben mit etwa 2 bis 3 ccm Impfgut.

b) Materialabscheidung bei B. ascendens, B. pasteurianum, B. lact. aerogenes, B. coli, B. propionicus.

Die gut bewachsenen *Platten* wurden in den vier ersten Fällen unter Wahrung der Sterilität mit dem Inhalt der *Kolben* abgeschwemmt, in denen die flüssigen Kulturen herangereift waren. Beim B. propionicus wurde sterile Kochsalzlösung (0,85proz.) verwendet. Sodann wurden die Bakterien mit einem sterilen Glasspatel abgelöst und die Flüssigkeiten in keimfreie Kolben abgegossen.

Die dünnen Suspensionen wurden zunächst auszentrifugiert, dann wurde das Sediment mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen, aufgerührt und zentrifugiert. Die Waschung mit Kochsalzlösung wurde dreimal wiederholt. Dauer des jedesmaligen Zentrifugierens 20 bis 25 Minuten.

c) Materialbeschaffung bei B. xylinum.

Dieser Erreger wurde nur auf flüssigem Nährboden gezüchtet; die Nährlösung wurde zum Schluß nach Möglichkeit abgegossen. Die Bakterienscheiben wurden in Kochsalzlösung übertragen und so oft gewaschen, bis die Waschflüssigkeit keine Färbung mehr zeigte. Die Züchtung geschah teils in Kulturkolben, teils in Drigalskischalen.

d) Trockenpräparate.

Die abzentrifugierten Bakterien wurden mittels eines Spatels auf Tonplatten gestrichen und im Vakuum-Exsikkator getrocknet.

Zur Verwendung kamen zu jedem Versuch bei B. ascendens, B. coli, B. lact. aerogenes, B. pasteurianum etwa 90 Platten, die eine Gesamtoberfläche von 28338 qcm aufwiesen.

Bei B. propionicus wurden jedesmal 100 bis 110 solcher Platten in Arbeit genommen.

Vor jedem Versuch mit den so gewonnenen Erregern wurde eine Strichkultur bzw. eine Kontrollplatte angelegt, um Reinheit und Wachstum prüfen zu können.

Tabelle I.

Wachstum der Bakterienarten.

Kultur	Nährböden		Temperatur	Wachstumsdauer Tage	Bemerkungen
	fest	flüssig			
1. B. ascendens	Würze-Agar	Würze	30°	4—6	Wächst sehr üppig
2. B. coli	Würze-Extr.-Agar	Würze-Bouillon	37°	4—6	Ebenso
3. B. lact. aerog.	Würze-Extr.-Agar	Würze-Bouillon	37°	4—6	Wächst gut
4. B. pasteur.	Würze-Agar	Würze	30°	6—7	Wächst spärlicher
5. B. propionic.	s. Spezialnährboden S. 463	—	30—37°	3—4	Üppiges Wachstum. Nach 3 Tagen meist reichlich Sporen
6. B. xylinum	—	Würze	Zimmertemp. unter 28°	5—6	Scheibenbildung. Bei 30° kein deutliches Wachstum mehr

Nach einer wichtigen Feststellung von *G. Bertrand*[1]) unterscheiden sich die Essigbakterien vom Typus Mycoderma Past. (B. ascendens und pasteurianum) vom B. xylinum dadurch, daß letzteres Glycerin zu Dioxyaceton oxydiert, während die ersteren den dreiwertigen Alkohol nicht angreifen oder total verbrennen, so daß sich keine Triose anhäuft. Alle bilden aber Essigsäure aus Weingeist.

II. Methodik.

Die Versuchsanordnung wird nur in ihren Hauptzügen angegeben, Abweichungen und Besonderheiten sind bei den einzelnen Versuchen verzeichnet.

A. Anordnung der Versuche.

Beim Hauptversuch wurden unter sterilen Bedingungen in einer luftdicht schließenden 2-Liter-Glasstöpselflasche zu 1 Liter physiologischer Kochsalzlösung (0,85proz.) und zu einem Überschuß von Kreide, gemäß den von *C. Neuberg*[2]) sowie *H. D. Dakin* und *H. W. Dudley*[3]) für die Dismutation als günstig erkannten Verhältnissen, die in

[1]) *G. Bertrand*, Bull. Soc. chim. Paris [3] 25, 731, 1901.

[2]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. 49, 504; 51, 484, 1913.

[3]) *H. D. Dakin* und *H. W. Dudley*, Journ. of biol. Chem. 15, 467, 1913; vgl. auch *P. A. Levene* und *G. M. Meyer*, ebendaselbst 14, 553, 1913.

Reinzucht kultivierten Erreger gefügt. (Über Versuche ohne Zusatz von kohlensaurem Calcium s. S. 472.)

Die Schliff-Flasche, in die durch einen Wattebausch ein bis auf den Boden reichendes umgebogenes Gaseinleitungsrohr eingeführt war, nebst dem zugehörigen Stöpsel war durch 1½stündiges Erhitzen bei 160° im Trockenschrank entkeimt worden, die Kreide durch einstündiges Erhitzen auf die gleiche Temperatur. Über die Vorbehandlung der einzelnen Bakteriensorten gibt Abschnitt I: „Züchtung und Vorbereitung der verwendeten Bakterienarten" Auskunft.

Durch das so beschickte Gefäß wurde nun zur Verdrängung der Luft eine Viertelstunde lang ein kräftiger Strom von Kohlensäure oder von Stickstoff geleitet; beide Gase waren mittels bicarbonatalkalischer bzw. gewöhnlicher ätzalkalischer Pyrogallussäure gereinigt[1]). Alsdann wurde mittels einer sterilen Pipette die zu dismutierende Substanzhin zugegeben. Darauf wurde die Glasstöpselflasche unverzüglich verschlossen, mit Hartparaffin abgedichtet und unter Absperrung mittels Quecksilbers für die Zeit der jeweiligen Versuchsdauer in den Thermostaten gestellt. Die Gefäße wurden im Brutschrank oftmals kräftig geschüttelt.

Unter denselben quantitativ und steril gestalteten Versuchsbedingungen wurden gleichzeitig zwei Kontrollversuche angesetzt. Der eine enthielt keine Bakterien, um den Einfluß des kohlensauren Calciums zu prüfen, der andere blieb ohne die zu untersuchende Substanz, um die Eigenproduktion von Säure bei den Bakterien kennenzulernen.

B. Aufarbeitung der Ansätze.

Wo die Versuche so geleitet waren, daß alles Ausgangsmaterial umgewandelt worden war, braucht man im jeweiligen Reaktionsgemisch lediglich die Dismutationsprodukte Alkohol und Säure voneinander zu trennen und jeden Körper quantitativ für sich zu bestimmen. Die Trennung geschah durch Zurückhaltung der flüchtigen Fettsäuren mittels Calciumcarbonats und Übertreiben der zugehörigen Alkohole mittels Wasserdampfs.

a) Trennung von Alkohol und Säure.

Besonders wichtig war es bei diesen Versuchen, nach Öffnung des luftdicht verschlossen gewesenen Glasstöpselgefäßes die Bakterien möglichst schnell durch Erhitzen des Reaktionsgemisches abzutöten. Zweckmäßig wird vor dem Öffnen der Reaktionsflasche die Apparatur gebrauchsfertig hergerichtet: Ein Claisenkolben, der wegen der starken

---

[1]) Das Gemisch einer Lösung von 5 g Pyrogallussäure in 15 ccm Wasser und 50 ccm gesättigter $KHCO_3$-Lösung auf zwei Waschflaschen verteilt.

Schaumbildung etwa 4 Liter der angegebenen Flüssigkeitsmenge fassen muß, wird in einem Wasserbad schon vor Versuchsbeginn auf etwa 50° erwärmt. Ein größerer Kessel, aus dem für drei- bis vierstündige Versuchsdauer Dampf entnommen werden kann, ist bereits angeheizt. Der senkrechte Hals des Claisenkolbens dient zur Aufnahme des Dampfeinleitungsrohres. Das Destillierrohr mündet in ein Doppelkühlersystem; bei diesem war ein großer *Liebig*scher Kühler an einen Messingkühler mit langer Destillationsschlange angeschlossen. Zwei miteinander verbundene und in Eis gekühlte Saugflaschen bilden die Vorlagen.

Nunmehr spült man das Dismutationsgut quantitativ durch den zweiten Hals in den Claisenkolben über, verschließt sofort mit einem Gummistopfen und leitet Wasserdampf ein. Mit diesem wurde immer 1½mal so viel Flüssigkeit übergetrieben, als das Volumen des verarbeiteten Reaktionsgemisches ausmachte.

b) Isolierung des Alkohols und seine quantitative Bestimmung.

Die abdestillierte Flüssigkeitsmenge, die sämtlichen entstandenen Alkohol enthält, prüft man zunächst mit Lackmuspapier; reagiert sie — was bei den mit Calciumcarbonat angestellten Versuchen nicht vorkommt — sauer, so rektifiziert man zunächst noch einmal über Calciumcarbonat. Zur Konzentrierung des Alkohols wurden immer zwei Drittel des jeweiligen Flüssigkeitsquantums übergetrieben.

Den Rückstand der ersten Destillation (über $CaCO_3$) vereinigt man mit dem Rückstand des eventuell entsäuerten zweiten Destillats.

Hat man das alkoholische Destillat bis auf etwa 100 ccm eingeengt, so prüft man abermals mit Lackmuspapier. Es zeigt sich manchmal eine schwache alkalische Reaktion infolge Anwesenheit von Ammoniak, das in der Siedehitze durch das Calciumcarbonat aus der Leibessubstanz der Bakterien frei gemacht ist. Man säuert deshalb bei der nächsten Rektifikation mit verdünnter Schwefelsäure an und erhält alsdann ein völlig neutral reagierendes Erzeugnis.

Nachdem man die alkoholische Lösung auf 20 bis 25 ccm anreichernd destilliert hat, prüft man mittels Piperidin und Nitroprussidnatrium oder mittels schwefligsaurer Fuchsinlösung auf eventuell noch vorhandene Spuren von Aldehyd. Fällt die Probe, was bei den innegehaltenen Bedingungen der biochemischen Versuchsanordnung zumeist der Fall ist, negativ aus, so kann man den vorliegenden Alkohol quantitativ bestimmen (Äthylalkohol z. B. pyknometrisch, Butylalkohol und Amylalkohol stalagmometrisch usw.).

Qualitativ wurden zudem die durch Dismutation gebildeten Alkohole sämtlich durch spezifische Reaktion identifiziert (Reoxydation zum Aldehyd, Jodoformprobe, *Nessler*sche Reaktion auf Butylalkohol) und

auch nach Darstellung in Substanz mittels ihrer Siedepunkte bzw. kristallisierten Ester charakterisiert.

c) Isolierung der Säure und ihre quantitative Bestimmung.

Der bei der ersten (bzw. auch zweiten) Wasserdampfdestillation im Kolben hinterbliebene Rückstand enthält die entstandene Säure als Calciumsalz. Er wurde filtriert bzw. abzentrifugiert und mehrmals mit heißem Wasser nachgewaschen; die Lösung wurde unter Zusatz von etwas Ätzkalk oder Soda eingeengt. Alsdann wurde nach Ansäuerung mit Phosphorsäure (oder Weinsäure) die flüchtige Fettsäure durch Wasserdampf übergetrieben.

Nun war in dem Kontrollversuch (s. unter e), der mit Bakterien allein, ohne die zu dismutierende Substanz angesetzt war, auch etwas Ameisensäure ermittelt worden, die wohl durch Säurewirkung aus dem Bakterienmaterial abgespalten worden war. Diese Ameisensäure, deren Menge bis 6 Proz. der Gesamtsäure ausmachte, wurde nach dem Verfahren von *Brasch* und *Neuberg*[1]) zerstört[2]). Zu diesem Zwecke wurde das Destillat alkalisiert und abermals eingeengt, mit einem Überschuß von Mercurisulfat und Schwefelsäure versetzt und 3 Stunden am Energierückflußkühler gekocht. Hierauf wurde mit Natronlauge neutralisiert, filtriert und ausgewaschen. Durch Beigabe eines Streifens Aluminiumblech muß man Quecksilbersulfat zurückhalten und mit ein wenig Silbersulfat (aus der physiologischen Kochsalzlösung stammende) Chlorionen binden. Schließlich wird wieder mit Phosphorsäure angesäuert und mit Wasserdampf so lange destilliert, bis in der übergehenden Flüssigkeit durch Lackmus keine Säure mehr angezeigt wird.

Jetzt kann die vorliegende Säure quantitativ in einem aliquoten Teile des Destillats durch die übliche Titration ermittelt werden.

Die verschiedenen Säuren wurden durch Darstellung ihrer Silbersalze identifiziert.

d) Aufarbeitung bei nicht quantitativer Dismutation von Acetaldehyd.

Bei einigen Versuchen mit Acetaldehyd (s. unter III., erste und zweite Versuchsreihe) war keine quantitative Dismutation erfolgt; als Ursache konnte eindeutig festgestellt werden, daß hier die Menge des angewendeten Bakterienmaterials nicht ausgereicht hatte. Da

---

[1]) *W. Brasch* und *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **13**, 299, 1908.

[2]) In den Fällen, wo Essigsäure zu bestimmen war, hätte man die Ameisensäure mit Chromsäure fortoxydieren können; in Gegenwart der höheren Säuren, die von Chromsäure angegriffen werden, ist dies Vorgehen nicht möglich, aber die Quecksilbermethode anwendbar.

aber nicht jeder, der die beschriebenen Dismutationsversuche nachzuprüfen wünscht, über derartige Bakterienmengen verfügt, wie sie bei der vorliegenden Arbeit im allgemeinen benutzt worden sind, so soll die Aufarbeitung eines Acetaldehydversuchs bei partieller Dismutation im folgenden kurz beschrieben werden.

Man verfährt bei der Trennung von Alkohol, Aldehyd und Säure zunächst genau so, wie S. 465 unter a) ausführlich dargelegt ist. Als Destillationsrückstand behält man alsdann wiederum das Calciumsalz der Säure; im Destillat jedoch befindet sich der durch Dismutation gewonnene Alkohol neben unangegriffenem Acetaldehyd. Zunächst wird nun die Menge des nicht dismutierten Acetaldehyds in einem aliquoten Teile nach der Methode von *Ripper-Fürth* jodometrisch bestimmt. Sodann erfolgt die Abtrennung des Äthylalkohols vom Acetaldehyd nach dem Verfahren von *G. Gorr* und *J. Wagner*[1]). Die Äthylalkohol und Acetaldehyd enthaltende Lösung wird mit Quecksilberchlorid (3 bis 4 Mol auf 1 Mol Aldehyd) und mit einer nicht ganz äquivalenten Menge n Natronlauge in der Art versetzt, daß ein 10proz. Unterschuß von Alkali gegenüber dem Quantum besteht, das theoretisch zur vollkommenen Umwandlung des Sublimats in Quecksilberoxyd erforderlich wäre. Nach fünfstündigem Erhitzen auf dem Baboblech am Energierückflußkühler ist der Aldehyd durch Mercurierung und teilweise Oxydation zu Trimercuri-essigsäure vollkommen entfernt. Der Alkohol kann dann unter Beigabe eines Aluminiumstückchens abdestilliert und in üblicher Weise angereichert werden. Seine Bestimmung und die der Essigsäure geschieht so, wie unter b) und c) beschrieben ist.

e) Aufarbeitung der Kontrollversuche.

Die oben angeführten Kontrollversuche mit Bakterien und Kreide, aber ohne Zusatz der zu dismutierenden Substanz, wurden genau wie unter a), b) und c) angegeben, aufgearbeitet. Die von den Bakterien abgegebene Säure besteht fast vollständig aus Ameisensäure; ihre Menge wird aus dem Titrationswert berechnet.

Die Kontrollversuche mit der zu dismutierenden Substanz und Kreide, aber ohne Bakterien, wurden bei jedem Aldehyd nur einmal durchgeführt, da durch das kohlensaure Calcium unter den obwaltenden Verhältnissen der angewendete Aldehyd nicht meßbar umgelagert wurde.

III. Beschreibung der Versuche.

Als Muster soll ein Versuch mit den erforderlichen Berechnungen in allen Einzelheiten angeführt werden. Es genügt alsdann, im folgenden aus der großen Anzahl von Ansätzen und Untersuchungen ein typisches

[1]) *G. Gorr* und *J. Wagner*, diese Zeitschr. **161**, 488, 1925.

Beispiel auszuwählen und in den übrigen Fällen die Endresultate mitzuteilen. Auch die Kontrollversuche, die im Verlauf der Arbeit keine neuen Ergebnisse zeitigten, brauchen nur einmalig berücksichtigt zu werden.

Hauptversuch.

B. ascendens, 6,8 g Trockensubstanz entsprechend, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung, 2,0 g Acetaldehyd. Unter Luftabschluß.

Kontrollversuch a.

B. ascendens, 6,8 g Trockensubstanz entsprechend, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Kontrollversuch b.

10 g kohlensaurer Kalk, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung, 2,0 g Acetaldehyd. Unter Luftabschluß.

Bestimmung der Menge trockener Bakterienmasse.

Von der in einem graduierten Stöpselzylinder befindlichen Aufschwemmung der abzentrifugierten Bakterien (s. vorher S. 463) in 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden 10,0 ccm mittels einer sterilen Pipette entnommen und in einem Wägegläschen eingedunstet; dann wurde bei 103° getrocknet.

Wägegläschen + Trockensubstanz . .	12,2525 g
Wägegläschen leer	11,8958 g
Trockene Substanz	0,3567 g

sind in 10 ccm der Kochsalzaufschwemmung enthalten.

In 500 ccm . . . . 50 . 0,3567 g =	17,835 g
Trockenbakterien + Kochsalz.	
In 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung	4,250 g Kochsalz
Die Bakterienmenge entsprach also .	13,585 g Trockensubstanz.

Aufarbeitung.

A. Alkohol.

Hauptversuch.

Versuchsdauer 18 Stunden.

Beim Öffnen der Stöpselflasche war ein starker Überdruck vorhanden. Er rührt von gasförmigem Kohlendioxyd her, das durch die dismutativ gebildete Säure aus der Kreide frei gemacht war. Die CO_2-Entwicklung kann so stark sein, daß man während des Versuchs häufig Gasblasen wie bei einer Gärung aufsteigen sieht, namentlich bei leichtem Klopfen des Behälters.

Probe auf Acetaldehyd mittels Nitroprussidnatrium und Piperidin negativ.

Enddestillat: 22,0 ccm.

Pyknometrische Alkoholbestimmung:

Pyknometer, leer . . . . 4,8667 g
Pyknometer-Wasserwert . . . . 6,9041 g
Pyknometer mit Substanz . . . . . 6,8882 g

6,8882	6,9041
4,8667	4,8667
Gew. d. alkohol. Lös. 2,0215;	Gew. d. Wassers 2,0374

$$d_{15} = \frac{2,0215}{2,0374} = 0,9922.$$

Dieses spezifische Gewicht zeigt gemäß der Tabelle von *K. Windisch* 4,4 Gewichtsproz. Alkohol an. Um das Gewicht in Grammen für das in Kubikzentimetern gemessene Alkoholdestillat zu finden, wird die Anzahl Kubikzentimeter mit der ermittelten Dichte multipliziert, also:

$$22 \,.\, 0,9924 = 21,8 \text{ g}$$

Diese enthalten $100 : 4,4 = 21,8 : x$

$$x = 0,9592 \text{ g Alkohol.}$$

Wir fanden 92,3 Proz. der Theorie, da die mögliche Ausbeute sich zu 1,04 g Äthylalkohol berechnet.

Qualitativer Nachweis.

Jodoform-Probe stark positiv; nach Reoxydation mit Chromsäure treten die Aldehydreaktionen sehr stark ein.

Kontrollversuch a.

Versuchsdauer 18 Stunden.

Die Stöpselflasche zeigte beim Öffnen einen minimalen Druck.

Enddestillat 22,0 ccm.

Jodoform-Probe negativ.

Nach Behandlung mit Chromsäure keine Acetaldehydreaktionen.

B. ascendens bildet also ohne Zusatz von Acetaldehyd *keinen* Alkohol.

Kontrollversuch b.

Versuchsdauer 18 Stunden.

Die Stöpselflasche zeigte beim Öffnen keinen Druck.

Im Gegensatz zum Hauptversuch gab sich die Anwesenheit unveränderten Acetaldehyds schon durch intensiven Geruch zu erkennen. Treibt man den Acetaldehyd unter den üblichen Kautelen mit Wasserdampf über, so findet man ihn quantitativ wieder; es entstehen weder Alkohol noch Säure.

B. Säure.

Hauptversuch.

Aus einem Drittel der Gesamtmenge wurden nach Zerstörung der Ameisensäure 1700 ccm mit Wasserdampf abdestilliert.

Bei Titration gegen Phenolphthalein verbrauchten 200 ccm Destillat 9,0 ccm n/10 NaOH.

1 ccm n/10 NaOH entspricht . . . . 0,006 g $CH_3 . COOH$,
9 „ n/10 NaOH entsprechen . . . 0,054 g $CH_3 . COOH$.

In 200 ccm Destillat waren enthalten 0,054 g $CH_3 . COOH$, in 1700 ccm Destillat also 0,459 g $CH_3 . COOH$ bei einem Drittel des Urdestillats.

In der Gesamtmenge 3 . 0,459 = 1,377 g Essigsäure.

Gefunden 1,38 g Essigsäure; berechnet 1,37 g Essigsäure.

Kontrollversuch a.

Abdestilliert: 630 ccm.

Titration gegen Phenolphthalein: 200 ccm Destillat verbrauchten 4,5 ccm n/10 NaOH.

Qualitativ wurde mittels Quecksilberchlorids Ameisensäure nachgewiesen.

1 ccm n/10 NaOH entspricht . . . . . 0,0046 g HCOOH,
4,5 ccm n/10 NaOH entsprechen. . . . 0,0207 g HCOOH.

Also: $\frac{0,0207 . 630}{20} = 0,065.$

Unter Vernachlässigung etwaiger Spuren einer höheren Säure wurden 0,065 g Ameisensäure gefunden.

Kontrollversuch b.

Der Acetaldehyd ist bei der Aufarbeitung quantitativ wiedergefunden worden.

Erste Versuchsreihe.

A. Versuche mit Acetaldehyd und Essigbakterien unter Zugabe von Calciumcarbonat; Acetaldehyd restlos verschwunden.

Ansatz 1. 9,1 g B. ascendens (Weinessigbakterium), 2,0 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Nach 18 Stunden war aller Acetaldehyd verschwunden; im Destillat einer kleinen Probe war die Nitroprussidnatrium-Piperidin-Reaktion völlig negativ.

Essigsäure: Gef. 1,40 g, ber. 1,36 g;
Alkohol: „ 1,01 g, „ 1,04 g.

Ansatz 2. 7,75 g B. pasteurianum (Bieressigbakterium), 1,04 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß. Versuchsdauer 18 Stunden. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe negativ.

Essigsäure: Gef. 0,71 g, ber. 0,71 g;
Alkohol: „ 0,52 g, „ 0,54 g.

Ansatz 3. 9,4 g B. xylinum (Schleimessigbakterium), 1,04 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kosalzlösung. Anaerobe Bedingungen.

Versuchsdauer 18 Stunden, sämtlicher Aldehyd verschwunden.

Essigsäure: Gef. 0,68 g, ber. 0,71 g;
Alkohol: „ 0,49 g, ber. 0,54 g.

Ansatz 4. 4,0 g Trockenbakterien ascendens, 1,04 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Versuchsdauer 18 Stunden. Nitroprussidnatrium - Piperidin - Probe negativ.

Essigsäure: Gef. 0,76 g, ber. 0,71 g;
Alkohol: „ 0,58 g, „ 0,54 g.

Tabelle II.

Versuche mit Acetaldehyd und Essigbakterien unter Zugabe von Calciumcarbonat.

Versuchsdauer 18 Stunden; Acetaldehyd restlos verschwunden.

Bakterien g		Acetaldehyd g	Essigsäure gefunden g	Essigsäure berechnet g	Äthylalkohol gefunden g	Äthylalkohol berechnet g
B. ascendens . . .	9,1	2,00	1,40	1,37	1,01	1,04
B. pasteurianum .	7,75	1,04	0,71	0,71	0,52	0,54
B. xylinum . . .	9,4	1,04	0,68	0,71	0,49	0,54
Trockenbact. ascendens . . .	4,0	1,04	0,76	0,71	0,58	0,54

B. Versuche unter Zugabe von Calciumcarbonat mit wenig Bakterien; Acetaldehyd nur teilweise dismutiert.

2,25 g B. pasteurianum, 2,00 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Anaerobe Bedingungen.

Versuchsdauer 18 Stunden. Nitroprussidnatrium - Piperidin - Probe positiv.

Nicht dismutierter Acetaldehyd: 0,67 g.

Essigsäure: Gef. 1,02 g, ber. auf den erhaltenen Alkohol 0,95 g;
Alkohol: „ 0,73 g, „ auf die erhaltene Essigsäure 0,78 g.

Zweite Versuchsreihe.

A. Versuche mit Acetaldehyd und Essigbakterien ohne Calciumcarbonat; Acetaldehyd restlos verschwunden.

Ansatz 1. 8,3 g B. ascendens, 1,00 g Acetaldehyd, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Versuchsdauer 24 Stunden. Nitroprussidnatrium - Piperidin - Probe negativ.

Essigsäure: Gef. 0,70 g, ber. 0,68 g;
Alkohol: „ 0,51 g, „ 0,52 g.

Ansatz 2. 3,3 g B. pasteurianum, 1,04 g Acetaldehyd, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung unter Luftabschluß.

Versuchsdauer 24 Stunden. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe negativ.

Essigsäure: Gef. 0,72 g, ber. 0,71 g;
Alkohol: „ 0,51 g, „ 0,54 g.

Tabelle III.

Versuche mit Acetaldehyd und Essigbakterien *ohne* Calciumcarbonat.
Versuchsdauer 24 Stunden; Acetaldehyd restlos verschwunden.

Bakterien		Acet-aldehyd	Essigsäure		Äthylalkohol	
			gefunden	berechnet	gefunden	berechnet
	g	g	g	g	g	g
B. ascendens . . .	8,3	1,00	0,70	0,68	0,51	0,52
B. pasteurianum . .	3,3	1,04	0,72	0,71	0,51	0,54

Wie man sieht, treten Essigsäure und Acetaldehyd in einem Mengenverhältnis auf, das scharf den theoretischen Ausbeuten entspricht.

Bei dieser Dismutation interferiert also nicht das Sulfhydrylsystem der Bakterienleiber (Glutathion von *Hopkins* bzw. Cystein); wie *E. Abderhalden* und *E. Wertheimer*[1]) entdeckt haben, kann die Disulfid- bzw. Mercaptangruppe durch Aufnahme oder Abgabe von Wasserstoff in die Vorgänge der Dismutation eingreifen.

B. Versuche ohne Calciumcarbonat mit wenig Bakterien; Acetaldehyd nur teilweise dismutiert.

3,3 g B. ascendens, 2,00 g Acetaldehyd, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Versuchsdauer 26 Stunden. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe positiv.

Nicht dismutierter Acetaldehyd: 0,56 g.

Essigsäure:	Gef. 0,93 g,	ber. auf den erhaltenen Alkohol 0,84 g;
Alkohol:	„ 0,64 g,	ber. auf die erhaltene Essigsäure 0,71 g.

Dritte Versuchsreihe.

Versuche an Acetaldehyd mit anderen Säure bildenden Bakterien.

Ansatz 1. 5,45 g B. lactis aerogenes, 1,04 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Versuchsdauer 20 Stunden. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe negativ.

Essigsäure:	Gef. 0 70 g,	ber. 0,71 g;
Alkohol:	„ 0,52 g,	„ 0,54 g.

Ansatz 2. 5,5 g B. propionicus, 1,04 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Versuchsdauer 18 Stunden. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe negativ.

Essigsäure:	Gef. 0,69 g,	ber. 0,71 g;
Alkohol:	„ 0,49 g,	ber. 0,54 g.

[1]) *E. Abderhalden* und *E. Wertheimer*, Pflügers Arch. 198, 415, 1923.

Ansatz 3. 5,34 g B. coli, 1,04 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftabschluß.

Versuchsdauer 18 Stunden. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe negativ.

Essigsäure: Gef. 0,70 g, ber. 0 71 g;
Alkohol: „ 0,53 g, „ 0,54 g.

Tabelle IV.
Versuche an Acetaldehyd mit anderen Säure bildenden Bakterien.
Versuchsdauer 18 bis 20 Stunden; Acetaldehyd restlos verschwunden.

Bakterien g		Acetaldehyd g	Essigsäure gefunden g	Essigsäure berechnet g	Äthylalkohol gefunden g	Äthylalkohol berechnet g
B. lact. aerogenes .	5,45	1,04	0,70	0,71	0,52	0,54
B. propionicus . .	5,50	1,04	0,69	0,71	0,49	0,54
B. coli	5,34	1,04	0,70	0,71	0,53	0,54

Vierte Versuchsreihe.

Versuche mit Acetaldehyd und Essigbakterien unter Zusatz von Kaliumcyanid.

Ansatz 1. 13,5 g B. ascendens, 0,96 g Acetaldehyd, 20 g Calciumcarbonat, 20 g Natriumbicarbonat, 500 ccm physiologische Kochsalzlösung, 0,33 g (= $^1/_{200}$ Mol) Kaliumcyanid. p_H = 7,7. Unter Luftabschluß.

Am Ende des Versuchs, nach 24 Stunden, war das p_H = 8,5 (die Zunahme rührt von der Auflösung des anfangs als Bodenkörper vorhandenen $NaHCO_3$ her.)

Der Acetaldehyd war vollkommen verschwunden.

Nun wurde mit Soda alkalisch gemacht und ein Überschuß über die berechnete Menge Ferrosulfat hinzugegeben, um das Cyanid zu binden. Alsdann konnte der Alkohol mittels Wasserdampfs abdestilliert werden.

Nach Ansäuern des Kolbenrückstandes mit Weinsäure wurde Essigsäure durch Wasserdampf übergetrieben, die zurückbleibende Lösung abzentrifugiert und eingedampft.

Berlinerblau-Reaktion — als Beweis für unoxydiert gebliebenes Cyanid — äußerst stark.

Essigsäure: Gef. 0,64 g, ber. 0,65 g;
Alkohol: „ 0,52 g, „ 0,50 g.

Ansatz 2. 9,4 g B. ascendens, 1,04 g Acetaldehyd, 20 g Calciumcarbonat, 1 g Natriumbicarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung, 0,33 g (= $^1/_{200}$ Mol) Cyankalium. Unter Luftabschluß. p_H = 7,4.

Versuchsdauer 24 Stunden. Alsdann war p_H = 7,2. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe negativ.

Berlinerblau-Reaktion äußerst stark.

Essigsäure: Gef. 0,74 g, ber. 0,71 g;
Alkohol: „ 0,48 g, „ 0,54 g.

Tabelle V.
Versuche mit Acetaldehyd und Essigbakterien unter Zugabe von Kaliumcyanid.
Versuchsdauer 24 Stunden; Acetaldehyd restlos verschwunden.

Bakterien g		Acet-aldehyd g	Essigsäure gefunden g	Essigsäure berechnet g	Äthylalkohol gefunden g	Äthylalkohol berechnet g	Anfangs-p_H	End-p_H
B. ascend.	13,5	0,96	0,64	0,65	0,52	0,50	7,7	8,5*)
B. ascend.	9,4	1,04	0,74	0,71	0,48	0,54	7,4	7,2

*) Die Erhöhung kommt durch Auflösung des anfänglich als Bodenkörper vorhandenen Natriumbicarbonats während der Versuchsdauer (S. 474) zustande.

Daß die *Dismutation*, die eben keine Oxydation ist, auch in Gegenwart von Cyankalium ungehindert sich vollzieht, steht in bester Übereinstimmung mit der Oxydationstheorie von *O. Warburg* sowie den neueren Ansichten von *Meerwein* über das Wesen der *Cannizzaro*schen Umlagerung (s. S. 458). Kaliumcyanid hebt dagegen die Tätigkeit der Alkoholoxydase auf; in noch unveröffentlichten Versuchen ist die quantitative Dismutation von Acetaldehyd zu Alkohol und Essigsäure auch in Gegenwart von Luftsauerstoff erreicht worden, sobald die Bakterien in Anwesenheit von KCN zur Einwirkung gelangten.

Fünfte Versuchsreihe.

Versuche mit Essigbakterien und Acetaldehyd bei Luftzutritt.

13,0 g Trockenbakterien ascendens, 1,02 g Acetaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Unter Luftzutritt.

Aufarbeitung nach 9 Stunden. Nitroprussidnatrium-Piperidin-Probe negativ.

Essigsäure: Gefunden 1,09 g, also etwa 80 Proz. Ausbeute, berechnet auf den angewendeten Acetaldehyd.

Alkohol: Gefunden 0,25 g, d. h. etwa 50 Proz. der Theorie und 24 Proz. der angewendeten Aldehydmenge.

Sechste Versuchsreihe.

Versuche mit Essigbakterien und α-Ketosäuren.

A. Dismutationsversuche.

Ansatz 1. 7,9 g B. ascendens, 2,00 g frisch rektifizierter *Brenztraubensäure*, 11 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Luftabschluß.

Zuerst wurden mit Kochsalzlösung verdünnte Brenztraubensäure und Calciumcarbonat in einer Glasstöpselflasche geschüttelt, bis keine Kohlensäureentwicklung mehr stattfand, dann wurde die Bakterienmasse hinzugegeben und durch Einleiten von Kohlendioxyd die Luft verdrängt.

Versuchsdauer 18 Stunden. Nitroprussidnatrium-Natronlauge-Probe negativ.

Essigsäure:	Gef. 0,67 g,	ber. 0,68 g;
Alkohol:	„ 0,55 g,	„ 0,52 g.

Ansatz 2. 9,6 g B. xylinum, 2,00 g *Brenztraubensäure*, 11 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Anaerobe Anordnung. Versuchsdauer 18 Stunden. Nitroprussidnatrium-Natronlauge-Probe negativ.

Essigsäure: Gef. 0,65 g, ber. 0,68 g;
Alkohol: „ 0,52 g, ber. 0,52 g.

Ansatz 3. 7,8 g B. ascendens, 3,08 g *Oxalessigsäure* (Oxy-maleinsäure), 20 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Luftabschluß. Versuchsdauer 18 Stunden. Eisenchloridreaktion negativ. Nitroprussidnatrium-Natronlauge-Probe negativ.

Essigsäure: Gef. 0,71 g, ber. 0,70 g;
Alkohol: „ 0,51 g, „ 0,53 g.

Tabelle VI.

Versuche mit Essigbakterien und α-Ketosäuren.

Versuchsdauer 18 Stunden; Brenztraubensäure und Oxalessigsäure restlos verschwunden.

Bakterien g		Substanz g		Essigsäure gefunden g	Essigsäure berechnet g	Äthylalkohol gefunden g	Äthylalkohol berechnet g
B. ascendens	7,9	Brenztraubens.	2,00	0,67	0,68	0,55	0,52
B. xylinum	9,6	„	2,00	0,65	0,68	0,52	0,52
B. ascendens	7,8	Oxalessigsäure	3,08	0,71	0,70	0,51	0,53

Durch die hier beschriebene Bildung von Äthylalkohol, der in der theoretisch möglichen Ausbeute aus den Säuren entsteht, findet auch eine bisher nicht erklärte Angabe von *N. L. Söhngen*[1]) ihre wahrscheinliche Deutung. Der Autor hat Spuren von Alkohol bei der Kultur von B. pasteurianum auf Säuren (wie Milchsäure oder Äpfelsäure) angetroffen. Man wird kaum fehlgehen in der Annahme, daß hierbei durch Oxydation zunächst Brenztraubensäure oder Oxalessigsäure auftreten, die wir jetzt mit ihrem nach der Decarboxylierung verbleibenden Aldehydrest der Dismutation quantitativ haben unterwerfen können. Der von uns nachgewiesene Entstehungsmodus des Alkohols ist plausibler, als die vom Autor angenommene umkehrbare Reaktion, durch die Essigsäure in Alkohol übergehen soll: $O_2 + C_2H_5OH \rightleftarrows H_2O + CH_3 . COOH$.

B. Vergärungsversuche.

Versuch 1. 15 ccm m/10 Brenztraubensäure wurden mit 1,5 ccm 2 m Kaliumacetatlösung[2]) und 1 g B. ascendens gemischt. Von der auf 22,0 ccm aufgefüllten Aufschwemmung wurden 11.0 ccm im Eudiometer angesetzt. Temperatur 30°.

Entwickelte CO_2-Menge 10,1 ccm; Theorie: 16,5 ccm.

---

[1]) *N. L. Söhngen*, Folia microbiologica 3, 151, 1914.

[2]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. 152, 203, 1924.

Versuch 2. Ansatz wie bei Versuch 1, jedoch auf das Doppelte verdünnt. Gesamtvolumen 44,0 ccm; davon wurden 22,0 ccm in ein Eudiometer gebracht.

Bei 30° wurden 9,9 ccm CO_2 (Theorie 16,5 ccm) entwickelt.

Versuch 3. 1,0 ccm m Dinatriumsulfit, 1,0 ccm m Brenztraubensäure und 1,0 ccm Essigsäure-Acetatgemisch (enthaltend im Liter 60 g Eisessig sowie 272 g $CH_3 . COONa + 3 H_2O$) wurden mit Wasser und 1,0 g Trockenbakterien (ascendens) auf 17,5 ccm gebracht[1]. Das Gemisch blieb unter Luftabschluß und einem Gäraufsatz 24 Stunden im Brutschrank bei 35° stehen und gab reichlich CO_2 ab. Alsdann wurden 2 ccm m Na_2CO_3-Lösung sowie 2 ccm m $BaCl_2$-Lösung zur Bindung von Sulfit hinzugegeben. Durch vorsichtige Destillation über $CaCO_3$, das auch eventuell noch vorhandene Brenztraubensäure zurückhält, wurde der abgefangene Acetaldehyd frei gemacht und mit Wasserdampf übergetrieben. Erhalten wurden 39 mg = 88,6 Proz. der theoretisch möglichen Menge. Der Acetaldehyd enthielt kein Acetoin[2].

Siebente Versuchsreihe.

Versuche mit den höheren Aldehyden n-Butyraldehyd und Isovaleraldehyd

(nebst Anhang über einen Versuch mit Glycerinaldehyd).

Ansatz 1. 9,2 g B. ascendens, 13 g Calciumcarbonat, 1,63 g *n-Butyraldehyd*, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Luftabschluß.

Versuchsdauer 24 Stunden. Reaktion mit Fuchsin-Schwefligsäure negativ.

Wegen der starken Schaumbildung in Gegenwart von höheren Fettsäuren wurden die auf dem Dismutationswege erzeugten Produkte (Alkohol und Säure) aus phosphorsaurer Lösung zusammen mit Wasserdampf übergetrieben. Das Destillat wurde mit Kreide versetzt, um die flüchtige Säure zu binden. Bei erneuter Destillation ging dann der Alkohol über und konnte durch die übliche Anreicherung konzentriert werden.

Der n-Butylalkohol wurde stalagmometrisch bestimmt mit dem *Traube*schen Tropfenzähler[3].

n-Buttersäure: Gefunden 1,10 g; berechnet 0,99 g.

n-Butylalkohol: Gefunden 0,79 g; berechnet 0,83 g.

Ansatz 2a. 13,2 g B. xylinum, 1,63 g *n-Butyraldehyd*, 20 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Bei Luftzutritt.

Ansatz 2b (Kontrolle). Ohne Bakterien. In 250 ccm physiologischer Kochsalzlösung 0,408 g n-Butyraldehyd und 5 g Calciumcarbonat. Luftzutritt.

Versuchsdauer 26 Stunden. Bei Ansatz 2a war in einer anreichernd destillierten Probe Butyraldehyd mittels schwefligsaurer Fuchsinlösung nicht mehr erkennbar.

Im Kontrollansatz (2b) wurden 0,087 g Buttersäure nachgewiesen, die durch Autoxydation des Butyraldehyds entstanden wären. 0,087 g

[1] Vgl. *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, Ber. 53, 1039, 1920.

[2] Vgl. *J. Hirsch*, diese Zeitschr. 131, 178, 1922; *C. Neuberg* und *A. v. May*, ebendaselbst 140, 299, 1923.

[3] *J. Traube*, Ber. 19, 882, 1886.

Buttersäure entsprechen 0,071 g oder 17,4 Proz. vom angewandten Butyraldehyd.

Die Titration ergab einen zu hohen Wert.

n-Butylalkohol: Gefunden 0,72 g, berechnet 0,83 g.

Ansatz 3a. 11,0 g B. ascendens, 3,04 g Isovaleraldehyd, 20 g Calciumcarbonat, 1 Liter physiologische Kochsalzlösung. Bei Luftzutritt.

Ansatz 3b (Kontrolle). Ohne Bakterien. In 250 ccm physiologischer Kochsalzlösung 0,76 g Isovaleraldehyd und 5 g Calciumcarbonat.

Versuchsdauer 29 Stunden. In einer abdestillierten Probe des Ansatzes (3a) war Isovaleraldehyd mittels schwefligsaurer Fuchsinlösung nicht mehr nachweisbar.

Im Kontrollversuch (3b) wurde die zugegebene Menge Isovaleraldehyd praktisch quantitativ wiedergefunden.

Amylalkohol wurde wiederum stalagmometrisch bestimmt. Die Titration der Säure ergab einen zu hohen Wert.

Amylalkohol: Gefunden 1,62 g; berechnet 1,55 g.

Ansatz 4. 7,4 g B. ascendens, 1,03 g kristallisierter Glycerinaldehyd, 10 g Calciumcarbonat, 1 Liter sterilisiertes Wasser. Luftzutritt.

Versuchsdauer 28 Stunden. Der Glycerinaldehyd war restlos verschwunden; *Fehling*sche Lösung wurde auch beim Erhitzen nicht reduziert.

Das gesamte Reaktionsgemisch wurde abzentrifugiert, zweimal auf der Zentrifuge gewaschen und dann im *Faust-Heim*schen Verdunstungskasten eingeengt. Die an Calcium gebundene Säure wurde mittels absoluten Alkohols gefällt und durch Filtration von dem in der Lösung vermuteten Glycerin getrennt; dieses war jedoch nicht nachweisbar. Bei Behandlung des Calciumsalzes mit H_2O_2 plus Eisensalz[1]) erhält man eine *Fehling*sche Lösung reduzierende und ein Osazon liefernde Flüssigkeit (Glykolaldehyd oder besser Monocarbonsäure?).

Analytische Ergänzungen.

A. Säuren.

Die durch Dismutation erhaltenen Fettsäuren wurden als Silbersalze identifiziert.

Silberacetat. 0,0331 g Substanz: 0,0215 g Ag.

$CH_3.COOAg$. Ber. Ag = 64,66 Proz.; gef. Ag = 64,95 Proz.

Buttersaures Silber. 0,1140 g Substanz: 0,0634 g Ag.

$CH_3.CH_2.CH_2.COOAg$. Ber. Ag = 55,38 Proz.; gef. Ag = 55,61 Proz.

B. Alkohole.

Durch fortgesetzte anreichernde Destillation und schließliche Aussalzung mit Kaliumcarbonat können die Alkohole in Substanz abgetrennt werden. Nach Trocknung über entwässertem Kupfersulfat sind sie durch ihren Siedepunkt charakterisiert worden.

Nach Vereinigung der Destillate von mehreren Acetaldehyd-Ansätzen wurden 3,8 g reinen, richtig siedenden *Äthylalkohols* abgeschieden; er wurde

[1]) *H. J. H. Fenton* und *H. O. Jones*, Journ. Chem. Soc. **77**, 72, 1900.

auch in ein kristallisiertes Derivat, den p-Nitrobenzoesäure-äthylester[1]), übergeführt, das den Schmelzpunkt 57° zeigte.

0,1820 g Substanz: 11,6 ccm N_2 (20,0° und 760 mm).

$NO_2 . C_6H_4 . COOC_2H_5$. Ber.: N_2 = 7,18 Proz.; gef. N_2 = 7,29 Proz.

Durch Reoxydation mit Bichromat-Schwefelsäure lieferte dieser Alkohol Acetaldehyd in reichlicher Menge.

Von *n-Butylalkohol* konnten aus den zwei Ansätzen (s. S. 477 und 478) trotz Verbrauchs eines Anteils 0,8 g in reinem Zustande isoliert werden.

Vom *Amylalkohol* sind 1,2 g vom richtigen Siedepunkt (127 bis 129°) gewonnen worden. Da das zur Dismutation benutzte Ausgangsmaterial „Isovaleraldehyd", wie stets optisch-aktiven Methyl-äthyl acetaldehyd enthielt, so zeigte auch der daraus auf dem Dismutationswege hervorgegangene „Iso-Amylalkohol" Drehungsvermögen; im 1-dcm-Rohr war eine nach links gerichtete Ablenkung von — 1,06° festzustellen.

Sowohl der n-Butylalkohol als der Isoamylalkohol lieferten durch Chromsäureoxydation die entsprechenden Aldehyde zurück.

Die thermodynamischen Verhältnisse.

Recht interessant gestaltet sich die Leistung der Essigbakterien in thermodynamischer Hinsicht. Es zeigt sich nämlich, daß bei der Dismutation (*D*) von Acetaldehyd rund 30 Proz. der Energie frei werden, die bei der initialen Oxydation des Äthylalkohols zu Acetaldehyd (*J*) auftreten.

Dieses folgt aus dem Vergleich der Verbrennungswärmen. Sie sind nach den Daten von *Landolt-Börnstein* (5. Auflage) sowie nach den Feststellungen von *H. Blaschko*[2]) berechnet; Herrn *O. Meyerhof* sind wir zu Dank verpflichtet, daß er sich der Mühe unterzogen hat, die Zahlen zu kontrollieren.

a)	Verbrennungswärme des *Äthylalkohols* (flüssig)	327,0 Cal
	Mischungswärme für 1 Mol Äthylalkohol . . .	1,8 „
		325,2 Cal
b)	Verbrennungswärme der *Essigsäure*	209,6 Cal
	Mischungswärme für 1 Mol Essigsäure	0,4 „
		209,2 Cal
c)	Verbrennungswärme des *Acetaldehyds* (flüssig) .	279,3 Cal
	Mischungswärme für 1 Mol Acetaldehyd . . .	4,5 „
		274,8 Cal.

Demnach ergibt sich:

$$2\,(274{,}8) = 325{,}2 + 209{,}2 + D,$$

oder

$$D = 549{,}6 - 534{,}4 = +\ 15{,}2\ \text{Cal},$$

und ferner

$$J = 325{,}2 - 274{,}8 = +\ 50{,}4\ \text{Cal}.$$

[1]) *E. Buchner* und *J. Meisenheimer*, Ber. 38, 625, 1905.

[2]) *H. Blasckho*, diese Zeitschr. 158, 432, 1925.

Anhang.

Zu den Versuchen mit Glycerinaldehyd[1]), deren endgültige Deutung noch aussteht (s. S. 460), ist das Ausgangsmaterial nach den Angaben von *A. Wohl* und seinen Mitarbeitern dargestellt. Dabei konnten einige kleine Verbesserungen angebracht werden. Sie betreffen zunächst die Gewinnung des

β-Chlor-propionaldehyd-diäthylacetals[2]).

$$CH_2Cl.CH_2.CH(OC_2H_5)_2.$$

Zwei Volumenteile absoluten Alkohols werden unter Eiskühlung mit Chlorwasserstoffgas gesättigt. (Die alkoholische Salzsäure ist zu jeder Acetalisierung frisch zu bereiten.) Unter ständigem Umschütteln der gekühlten Flüssigkeit läßt man bei Fernhaltung von Feuchtigkeit (Chlorcalciumrohr) aus einem Tropftrichter einen Volumenteil wasserfreies Acrolein zutropfen. Bei Verarbeitung größerer Mengen trübt sich schon während des Zutropfens die Reaktionsmasse und teilt sich alsbald in eine schwere ölige Schicht und eine aufschwimmende Flüssigkeit. Es ist nicht zweckmäßig, im Scheidetrichter zu trennen und durch wiederholtes Einleiten von Chlorwasserstoffgas in die aufschwimmende Flüssigkeit noch kleine Mengen Öl abzuscheiden, sondern man versetzt zur Entfernung von Salzsäure und Alkohol das gesamte Reaktionsgemisch mit überschüssigem Calciumcarbonat. Dabei ergab sich, daß eine absolute Neutralisation kaum möglich ist. Somit ist auch die Abscheidung des Acetals durch Wasser weniger vorteilhaft, da Spuren von Säure bei Gegenwart von Wasser katalytisch verseifend wirken. Daher wurde das Acetal nach der möglichst vollständigen Neutralisation durch Calciumcarbonat sofort mit absolutem Äther aufgenommen und dadurch von vornherein die Gefahr der Verseifung vermieden.

Der das Acetal enthaltende Äther wurde filtriert, der Filterrückstand mit absolutem Äther nachgewaschen und das restierende β-Chlorpropionacetal, nach Abdampfen des Äthers, bei 73° bis 74° und 20 mm Druck im Vacuum rektifiziert.

Glycerinaldehyd-diäthylacetal[3]),

das aus dem β-Chlorpropionaldehydacetal in bester Ausbeute erhalten wird, wenn das zur Salzsäureabspaltung anzuwendende gepulverte Kalium-

[1]) Ein orientierender Dismutationsversuch, den ich am „Anhydrid des Glycerinaldehyds", am *Methylglyoxal*, nebenher mit A. Gottschalk vornahm, ergab ein nicht verwertbares Resultat. Methylglyoxal war nach Zusammenbringen mit B. ascendens zersetzt. Infolge eingetretener Fäulnis waren hauptsächlich flüchtige Fettsäuren entstanden. Eine qualitative Farbreaktion auf Milchsäure halte ich nicht für beweisend, weil sie mit dem Ausgangsmaterial, einer früher von Herrn Dr. Gorr dargestellten Methylglyoxallösung, bereits positiv ausfiel, so daß über die Art der biochemischen Methylglyoxalzersetzung noch nichts ausgesagt werden kann. Fr. Windisch.

[2]) *A. Wohl*, Ber. **31**, 1797, 1898; *A. Wohl* und *W. Emmerich* ebendaselbst **33**, 2761, 1900.

[3]) *A. Wohl* und *C. Neuberg*, Ber. **33**, 3095, 1900.

hydroxyd ganz trocken ist, wird nach den Angaben der Literatur mit Permanganat zum Acetal des Glycerinaldehyds oxydiert.

Nach Verschwinden des Permanganats wird aufgekocht, abgesaugt, ausgewaschen und das Filtrat bis zur möglichst vollständigen Abscheidung des Glycerinaldehydacetals mit Pottasche versetzt; hiervon ist etwa 1 kg pro Liter Flüssigkeit erforderlich. Das abgeschiedene Öl wird abgeschöpft, der in der Flüssigkeit noch verbliebene Rest durch Ausschütteln mit viel Äther ausgezogen. Es ist bei Inangriffnahme erheblicherer Mengen nicht ratsam, die ätherische Lösung mit dem freiwillig abgeschiedenen Öl zu vereinigen; denn Glycerinaldehydacetal ist in Äther schwer löslich, und man hätte mit sehr großen Mengen Äther zu operieren. Darum dampfe man den Ätherauszug für sich ab und vereinige den Rückstand mit der Hauptmenge. Die Gesamtmenge des Öles wird dann in absolutem Alkohol gelöst und über Natriumsulfat getrocknet. Darauf filtriere man ab und wasche mit absolutem Alkohol nach. Glycerinaldehyd-diäthylacetal geht bei 130° und 20 mm Druck im Vakuum als farbloses Öl über.

Unseren Dank möchten wir in erster Linie Frau *Gertrud Joel* für ihre unermüdliche Hilfe bei der Massenzüchtung der Bakterien in Reinkultur aussprechen. Großen Dank schulden wir auch den Herren Professoren *R. Burri* in Bern-Liebefeld, *F. Ehrlich* in Breslau, *F. Hayduck* und *Br. Heymann* sowie Herrn Dr. *Stapp* in Berlin für die Überlassung verschiedener Bakterienkulturen.

Über den Mechanismus der Milchsäurebildung bei Bakterien. II.

Von

Carl Neuberg und **Günther Gorr.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Die Milchsäure stellt für die tierische Zelle das Produkt einer zeitweiligen Stabilisierung dar; für die Bakterienzelle ist sie in vielen Fällen das Produkt der endgültigen Stabilisierung. Die Herkunft der Milchsäure aus 6-Kohlenstoffzuckern als Muttersubstanz ist nicht zweifelhaft. Die Annahme, daß Milchsäure über die Zwischenstufe des Methylglyoxals entsteht, wird weitgehend gestützt durch Auffindung eines Ferments, das den genannten Ketonaldehyd durch eine innere Dismutation zu Milchsäure hydratisiert. Während diese Umwandlung des Methylglyoxals durch Enzyme des Tierkörpers seit 12 Jahren bekannt ist, konnte die im Haushalt der Natur nicht minder wichtige bakterielle Bildung von Milchsäure erst neuerdings mit der Wirkung der Ketonaldehydmutase auf Methylglyoxal verknüpft werden.

Wir haben vor einiger Zeit mitgeteilt[1]), daß das *Bacterium coli* imstande ist, nicht nur allgemein Dismutation auszulösen, sondern Methylglyoxal quantitativ umzuwandeln. Dabei erhielten wir in reichlicher Menge Milchsäure und konnten sie in Form des Zinklactats isolieren. Nun ist das Bacterium coli nicht zu den Erregern der reinen Milchsäuregärung zu rechnen; denn nach der bekannten Gleichung von *A. Harden* wird gerade die Hälfte des Zuckers durch das Bacterium coli zu Milchsäure vergoren, während der Rest in Essigsäure, Äthylalkohol, Kohlendioxyd und Wasserstoff übergeht.

Bewiesen hatten wir wohl, daß eine glatte bakterielle Milchsäurebildung auf dem Wege über Methylglyoxal erfolgen kann. Es schien aber, da Besonderheiten im Mechanismus der Coliwirkung unverkennbar sind, erforderlich, auch echte Milchsäurebildner in der genannten Richtung zu untersuchen. Wir haben hierfür den *Lactobazillus* (S. 48a, 3) gewählt, den uns in dankenswerter Weise Herr Prof. *F. Boas* sowie Herr Dr. *Demeter* von der Landwirtschaftlichen Hochschule in *Weihen-*

---

[1]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **162**, 490, 1925.

stephan zur Verfügung gestellt haben. Dieser Mikroorganismus gehört zu den wahren Milchsäurebildnern, und zwar zu der großen Gruppe der *langen Milchsäurebazillen.*

Der Lactobazillus verwandelt Methylglyoxal mit großer Schnelligkeit sowie mit praktisch 100 Proz. Ausbeute in Milchsäure.

Die Studien über bakterielle Milchsäurebildung haben wir sodann auf einen ganz anders gearteten Erreger ausgedehnt, auf den *Bacillus propionicus*. Bekanntermaßen erzeugt dieser aus Milchzucker bzw. aus den die Lactose[1]) zusammensetzenden Hexosen Propionsäure und Essigsäure gemäß der Gleichung:

$$3C_6H_{12}O_6 = 4CH_3.CH_2.COOH + 2CH_3.COOH + 2CO_2 + 2H_2O.$$

Wie *Fitz*[2]) gezeigt hat, entstehen die beiden Fettsäuren in dem gleichen Verhältnis, wenn man das Bakterium statt auf Milchzucker auf Lactat kultiviert:

$$3CH_3.CHOH.COOH = 2CH_3.CH_2.COOH + CH_3.COOH. + CO_2 + H_2O.$$

Dadurch war es wahrscheinlich geworden, daß der Abbauweg bei der Propionsäuregärung über die Milchsäurestufe führt. Der Umstand, daß zur Entstehung der beiden Fettsäuren auch Brenztraubensäure[3]) — wegen ihrer anderen prozentischen Zusammensetzung natürlich[4]) im anderen Verhältnis — Anlaß gibt, führte uns zu der Vermutung, daß mindestens die Methylglyoxalstufe beim Vorgang der gemischten Propionsäure-Essiggärung durchlaufen wird[5]). Es war zu erwarten, daß bei kurzer Versuchsdauer und Verwendung einer großen Bakterienaussaat Milchsäure zu fassen sei. Diese Voraussetzung hat sich im vollen Umfang erfüllt. Mit einer Kultur des Erregers, den wir Herrn Prof. *R. Burri* in Bern-Liebefeld verdanken, erreicht man eine Überführung von Methylglyoxal in Milchsäure zu etwa 90 Proz. der theoretisch möglichen Ausbeute. Bei 24stündiger Ausdehnung des Versuchs entstehen nebenher kleine Mengen flüchtiger Säure. Wir haben weiterhin gefunden, daß die Ketonaldehydmutase im Bacillus propionicus sich so kräftig bestätigt, daß schon nach 5 Stunden eine Lösung von 1 g Methylglyoxal in 1000 ccm reinen Wassers vollständig

---

[1]) *E. v. Freudenreich* und *O. Jensen*, Chem. Centralbl. **1907**, I, 421.

[2]) *A. Fitz*, Ber. **11**, 1899, 1878.

[3]) *A. J. Virtanen*, Soc. scient. fenn. **1**, 36, 1923.

[4]) *C. Neuberg*, in Oppenheimers Handb. d. Biochem., 2. Aufl., II, 481, **1924**.

[5]) Über die gemischte Propionsäure-Milchsäure-gärung des Glucosamins liegt eine interessante Beobachtung von *E. Abderhalden* und *A. Fodor* (H. **87**, 214, 1913) vor; die Umwandlung des amidierten Zuckers wurde durch einen Heubazillus herbeigeführt.

verarbeitet und zu 90 Proz. in Lactat übergeführt wird. Bei Versuchen über die Dismutation von Acetaldehyd haben sich der Bacillus propionicus und das Bacterium coli wie Essigbakterien verhalten[1]; ihre starke Dismutationswirkung offenbart sich nun auch gegenüber dem Methylglyoxal.

Entsprechend der Erfahrung, daß die Erzeugung von Milchsäure eine der universellsten Leistungen der Zellen darstellt, haben wir noch in anderen Fällen die Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure beobachtet, auch dort, wo Milchsäure weder für ein normales Stoffwechselendprodukt, noch für ein übliches Substrat gelten kann. Somit ist es nicht überraschend, daß z. B. der Bacillus lactis aerogenes Methylglyoxal in Milchsäure überführt. Bemerkenswert ist, daß auch *höhere Pflanzen*, wie Erbsensamen, die *Dismutation* des Methylglyoxals recht glatt zuwege bringen, auch in Gegenwart eines Antisepticums.

Diese Untersuchungen sollen nach verschiedenen Richtungen fortgesetzt werden.

A. Versuche mit dem Lactobazillus.

Der Erreger wurde gleichzeitig auf Traubenzuckerbouillon und auf festem Traubenzuckeragar gezüchtet. Die von 5 Liter Bouillon und 80 Platten gezogenen Kulturen wurden in der von *Neuberg* und *Windisch* (l. c.) beschriebenen Weise abgeschwemmt, gewaschen und steril abzentrifugiert.

I.

α) Verwendet wurden, wie die Ermittlung an einer kleinen Probe ergab, eine Bakterienmenge entsprechend 2,1 g Trockensubstanz, Diese wurde in 980 ccm keimfreier physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und nach Zugabe von 10 g bei 130^0 sterilisierten Calciumcarbonats mit 20,0 ccm einer frisch hergestellten 5proz. Methylglyoxallösung versetzt. Das Gemisch blieb in einer sterilisierten Glasstöpselflasche im Brutschrank bei 37^0 stehen.

β) Zum Vergleich wurde ein Gemenge von 5,0 ccm der obigen Methylglyoxallösung mit 245 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 2,5 g kohlensaurem Kalk unter gleichen Bedingungen aufbewahrt.

Während sich im bakterienfreien Ansatz β nach 15 Stunden das Methylglyoxal noch in größten Mengen vorfand, war es zu dieser Zeit in dem Hauptversuch α völlig verschwunden, wie die Prüfung mittels p-Nitrophenylhydrazinacetat in einem abzentrifugierten kleinen Anteil anzeigte.

[1]) *C. Neuberg* und *Fr. Windisch*, diese Zeitschr. **166**, 461, 1925.

Um den nicht zu vernachlässigenden Betrag der freiwilligen Milchsäurebildung aus Methylglyoxal, die bei den Versuchsbedingungen nicht zu umgehen ist, zu messen, haben wir auf die von uns früher angegebene Art nach dem Nitrophenylosazonverfahren in der Blindprobe β die am Schluß des Versuchs vorhandene Menge Methylglyoxal ermittelt, wobei wir 89,7 Proz. wiederfanden.

Zum Nachweis der in dem Bakterienversuch entstandenen Milchsäure wurde diese als Zinklactat isoliert.

Hierzu wurde die methylglyoxalfrei gewordene Flüssigkeit aufgekocht und zentrifugiert; das Sediment wurde quantitativ ausgewaschen. Die klare Lösung wurde dann im *Faust-Heim*schen Verdunstungskasten eingeengt und mit Salzsäure nebst Quecksilberchlorid behandelt. Nach dem Abfiltrieren des Niederschlags und Auswaschen desselben wurde die klare Lösung mit Schwefelwasserstoff entquecksilbert und das Filtrat durch einen Luftstrom vom H_2S befreit. Das Volumen dieser Lösung betrug 400 ccm.

Davon wurde der zehnte Teil = 40 ccm zur unten angeführten quantitativen Oxydations-Titrations-Bestimmung der Milchsäure zurückgestellt.

Die Hauptmenge (360 ccm) wurde nach Neutralisation mit Natronlauge und ganz schwachem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure im Vakuum eingeengt, mit Phosphorsäure versetzt und mit festem Ammoniumsulfat gesättigt; dann wurde filtriert, mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung nachgewaschen und im Perkolator mit Äther extrahiert. Der nach Verdunsten des Ätherauszuges erhaltene Rückstand, der zur Entfernung flüchtiger Säuren zweimal auf dem Wasserbad eingeengt war, wurde darauf wie gewöhnlich über das Bleisalz in das Zinklactat übergeführt. Es wurden so 1,60 g milchsaures Zink als Rohprodukt gewonnen, das nach Abpressen auf Ton und Umkristallisieren aus heißem Wasser sofort ein analysenreines Produkt (d, l-Lactat) lieferte.

0,1480 g Substanz gaben bei 105° 0,0272 g H_2O ab.
0,1208 g wasserfreie Substanz lieferten 0,0406 g ZnO.

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$. Ber.: H_2O = 18,18 Proz.; gef.: H_2O = 18,38 Proz.
$(C_3H_5O_3)_2Zn$. Ber.: ZnO = 33,47 „ gef.: ZnO = 33,61 „ .

Einen Überblick über die quantitativen Verhältnisse der durch die Milchsäurebakterien herbeigeführten Methylglyoxaldismutation gewährt die Milchsäurebestimmung nach dem Verfahren der Permanganatoxydation mit anschließender Titration des Aldehyds[1]). Hierzu dienten die zurückgestellten 40 ccm. Umgerechnet auf den ganzen Ansatz, wurden 1,272 und 1,202 g = 101,7 bzw. 96,2 Proz. der Theorie gefunden[2]).

[1]) Siehe die Vorschriften von *S. W. Clausen*, Journ. of biol. Chem. 52, 263, 1922; *H. Hirsch-Kauffmann*, H. 140, 25, 1924; *O. Meyerhof*, H. 141, 316, 1924.

[2]) Aus x g Methylglyoxal können $5/4\,x$ g Milchsäure hervorgehen.

II.

In einem anderen Falle gelangte der *Lactobazillus* nicht in physiologischer Kochsalzlösung, sondern in rein wässeriger Suspension zur Einwirkung auf das Methylglyoxal. Im übrigen waren die Mengenverhältnisse dieselben wie bei Versuch I. Die Quantität der Bakterien betrug 5,1 g, berechnet als Trockensubstanz; in diesem Falle waren die Erreger statt mit physiologischer Kochsalzlösung auf der Zentrifuge dreimal mit sterilisiertem destillierten Wasser gewaschen.

Diese Versuchsanordnung bietet die Möglichkeit, so vorzugehen, wie es früher *Neuberg*[1]) bei entsprechenden Versuchen mit tierischem Ferment getan hatte. Es zeigte sich nämlich, daß auch unter diesen Bedingungen die beträchtliche Menge Methylglyoxal schnell, schon in 3¼ Stunden, vollständig durch den Bazillus umgesetzt war; dabei war durch wiederholtes Schütteln auf einer im Brutschrank montierten Maschine der Ablauf der Reaktion unterstützt worden.

Nach 195 Minuten konnte die methylglyoxalfrei gewordene Flüssigkeit aufgekocht werden. Das Filtrat von dem aus Bakterien und Kreide bestehenden, mit heißem Wasser ausgewaschenen Schlamm wurde auf etwa 60 ccm eingeengt und warm mit der gleichen Menge heißen absoluten Alkohols versetzt. Die sich ausscheidenden Flocken wurden abfiltriert und mit 50proz. heißem Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten alkoholischen Lösungen wurden verdunstet und lieferten direkt *kristallisiertes Calciumlactat.*

Die Bestimmung der Milchsäure nach dem Verfahren der Oxydation-Titration zeigte die *vollständig quantitative Umwandlung des Methylglyoxals* an, indem 100,9 Proz. der theoretisch möglichen Menge Milchsäure ermittelt wurden.

Bei der kurzen Versuchsdauer wurden im bakterienfreien und gleichzeitig angestellten Kontrollansatz 97,6 Proz. unverändertes Methylglyoxal, d. h. praktisch das gesamte Ausgangsmaterial, wiedergefunden.

B. Versuche mit dem Bacillus propionicus.

Die Zusammensetzung der Haupt- und Vergleichsansätze sowie die Art der Aufarbeitung entsprach völlig dem beim Lactobazillus für Versuch I geschilderten Vorgehen. Bemerkenswerterweise war in dem Ansatz mit 2,5 g Bakterien[2]) bereits nach 5 Stunden das Methylglyoxal restlos verschwunden, während die Kontrollprobe zu dieser Zeit noch 96,9 Proz. der Ausgangssubstanz enthielt.

---

[1]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **51**, 488, 1913.

[2]) Berechnet als Trockensubstanz. Der Bacillus propionicus war nach den bei *Neuberg* und *Windisch* (diese Zeitschr. **166**, **463**, **1925**) gemachten Angaben in völliger Reinkultur auf 90 Drigalskiplatten gezüchtet. Frau *Gertrud Joel* fühlen wir uns für ihre Hilfe zu großem Dank verpflichtet.

Die aus 1 g Methylglyoxal nach Einwirkung vom Bacillus propionicus erzielte Menge Zinklactat betrug (als Rohprodukt) 1,52 g.

Die Analysendaten der umkristallisierten Substanz stimmten auf d, l-Salz.

0,0962 g Substanz gaben bei 105° 0,0177 g H_2O ab.

0,0785 g wasserfreie Substanz lieferten 0,0263 g ZnO.

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$. Ber.: H_2O = 18,18 Proz.; gef.: H_2O = 18,40 Proz.
$(C_3H_5O_3)_2Zn$. Ber.: ZnO = 33,47 „ gef.: ZnO = 33,51 „ .

In einem anderen Versuch mit B. propionicus ergab die Oxydations-Titrations-Bestimmung, daß 90,24 Proz. des vollständig verschwundenen Methylglyoxals in Milchsäure übergegangen waren. Ob die fehlenden 10 Proz. Ungenauigkeiten der Methodik zur Last fallen oder auf eine sekundäre Umwandlung von Milchsäure bzw. auf eine andersartige Verarbeitung des Methylglyoxals zu beziehen sind, bleibe dahingestellt. Etwas flüchtige Säure (6 Proz.) war immerhin entstanden, nämlich 0,06 g, berechnet als Essigsäure.

Vergleichende Versuche über die zellfreie Vergärung von Hexose-di-phosphorsäure, Glucose, Fructose, Saccharose, sowie Invertzucker.

Von

C. Neuberg und **M. Kobel.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

In dem Magnesiumsalz der Hexose-di-phosphorsäure, das unlängst von *Neuberg* und *Sabetay* beschrieben worden ist, liegt ein beständiges und zugleich leicht lösliches Salz des Zymophosphats vor. Es eignet sich deshalb, wie schon damals hervorgehoben wurde, zu biochemischen Versuchen. Wir haben es benutzt, um von neuen Gesichtspunkten aus die Vergärbarkeit der Hexose-di-phosphorsäure zu prüfen.

Dieser Verbindung wird seit einer Reihe von Jahren eine große Bedeutung für die desmolytischen Zuckerspaltungen zugeschrieben. Wenn auch verschiedene Zymophosphate existieren, so ist doch die Hexose-di-phosphorsäure nach *Harden* und *Young* ihr wichtigster und auch in größtem Umfange gebildeter Vertreter. Die Bedeutung der Phosphorylierung ist bis zum heutigen Tage nicht durchsichtig. Man hat mit dem Vorgange die Vorstellung verknüpft, daß es sich bei der Veresterung von Zucker mit Phosphorsäure um eine Kommutatorwirkung handelt. Gestützt wird eine solche Annahme durch die Tatsache, daß das gleiche Zymophosphat aus den drei zusammengehörigen Hexosen: Glucose, Fructose und Mannose hervorgeht, die deshalb als Zymohexosen bezeichnet werden. Es ist aber wiederholt auch mit der Möglichkeit gerechnet worden, daß durch die Phosphorylierung eine besonders zerfallsbereite Modifikation des Zuckers, ein am-Gebilde, geschaffen wird, und gerade diese Hypothese ist in letzter Zeit sehr in den Vordergrund gerückt worden. Wir haben gehofft, Beweise für die Richtigkeit einer solchen Voraussetzung dadurch erbringen zu können, daß unter günstig gewählten Versuchsbedingungen die Befähigung des Hexose-di-phosphorsäure-esters zu besonders leichtem desmolytischen Zerfall sich in großer Gärgeschwindigkeit offenbaren würde, d. h. durch schnellere Vergärung als die einer genau äquivalenten Menge irgend eines nicht mit Phosphorsäuregruppen beladenen Zuckers.

Die miteinander völlig vergleichbaren Versuche, die wir vorgenommen haben, wurden in der Weise angestellt, daß bei konstanter Temperatur m/4 Lösungen der Hexosen und des Hexose-di-phosphats sowie m/8 Lösungen der Saccharose und des Invertzuckers in Mazerationssaft bereitet wurden. Da das Magnesium-hexose-di-phosphat schwach alkalisch reagiert und somit dem Safte eine andere Wasserstoffionenkonzentration erteilt als die neutral reagierenden Zucker, so wurde im Falle der Verwendung des hexose-di-phosphorsauren Magnesiums das gleiche p_H durch Zusatz von etwas Essigsäure hergestellt.

Da sich in vergleichenden Vorversuchen ergab, daß Hexose-di-phosphat entschieden am langsamsten vergor, so haben wir eine Reihe von Variationen angebracht gemäß folgenden Überlegungen. Die *Harden-Young*sche Gärungsgleichung besagt, daß von zwei in Reaktion tretenden Molekülen Zucker das eine ins Di-phosphat verwandelt wird, während das andere die typische Spaltung in Äthylalkohol und Kohlendioxyd erleidet. Darum haben wir auch in Serienversuchen jeweils äquimolekulare Gemische von Hexose-di-phosphat plus Glucose, Fructose, Invertzucker und Saccharose angesetzt, und zwar derart, daß wiederum der Gehalt des Saftes in bezug auf $C_6H_{12}O_6$ in allen Fällen = m/4 war (Tabelle VI). Hier ergab sich ebenfalls, daß ganz unzweifelhaft die Gesamtvergärung der Gemische nicht unerheblich zurückblieb hinter der Vergärung von hexose-di-phosphatfreien Zuckerkontrollen; zwar setzte die Gärung überall schneller ein als bei den Zuckerproben ohne Phosphorsäureester, ganz im Einklange mit dem von *O. Meyerhof* beschriebenen Einfluß zugefügter hexose-di-phosphorsaurer Salze auf den Beginn der Zuckerspaltung.

Nachdem auch diese Versuche keine Vorzugsstellung des Zymophosphats hatten erkennen lassen, haben wir weitere Experimente über die Wirkung von Hexose-di-phosphat in wechselnden Konzentrationen auf die Vergärung nicht phosphorylierter Zucker angestellt. In dem Falle, wo der Saft m/4 Magnesiumsalz plus m/4 Fructose enthielt, also in bezug auf „Hexose" m/2 war, blieb die Menge des frei werdenden Kohlendioxyds während des ganzen Versuchs um ein weniges größer als die Summe der entwickelten Kubikzentimeter Kohlensäure in den Versuchen mit getrennter Vergärung von m/4 Fructose und m/4 Hexose-di-phosphat[1]) (Tabelle IV). Hier könnte man also bei einem Gemisch von phosphorylierter und nicht phosphorylierter Hexose das Postulat der *Harden-Young*schen Gärungsgleichung für

[1]) Dieser Versuch demonstriert auch die Ungiftigkeit des Magnesiumions im verwendeten hexose-di-phosphorsauren Magnesium selbst bei hoher Konzentration. Daß ein schädlicher Einfluß des Magnesium-ions nicht in Betracht kommt, lehren ebenso alle übrigen Zusatzversuche, die mit diesem Salz vorgenommen wurden (s. die Tabellen).

erfüllt halten. Da aber die Konzentration an „Hexose“ im Versuch der gemeinsamen Vergärung doppelt so groß war als bei den beiden getrennten Ansätzen, und da ferner nach Erfahrungen von *Buchner* konzentrierte Zuckerlösungen reichlicher als verdünnte vergoren werden, so muß zum Vergleich eigentlich das Ergebnis solcher Ansätze dienen, die in bezug auf $C_6H_{12}O_6$ äquimolekular sind. Bei einer solchen Gegenüberstellung zeigt sich sonderbarerweise, daß das Gemisch von m/8 Magnesiumsalz plus m/8 Fructose 40 Proz. CO_2 weniger abgibt als m/4 Fructose allein (Tabelle VI). Übrigens entsteht auch aus m/4 Lösungen von Glucose und m/8 Lösungen von Invertzucker und Saccharose für sich mehr Kohlensäure als aus den Ansätzen, in denen der Zucker zur Hälfte frei, zur Hälfte phosphoryliert angewendet war (Tabelle VI). Daß nun der Kohlensäurezuwachs in den Versuchen mit gemeinsamer Vergärung äquimolekularer Mengen von Zymophosphat plus nicht phosphoryliertem Zucker nicht aus dem Hexose-di-phosphat zu stammen braucht, ergibt sich aus der Tatsache, daß auch im Falle der Erniedrigung der Zymo-phosphat-konzentration auf m/40 und m/400 die vermehrte Kohlensäureentwicklung zu beobachten ist (Tabellen IV und V). Somit kann es sich um die stimulierende Wirkung des Hexose-di-phosphats auf den Gärungsvorgang handeln. Natürlich ist auch die Deutung möglich, daß im Sinne der *Harden-Young*schen Gärungsgleichung auch nur *ein* vorhandenes Molekül von Zymophosphat den Umsatz einer größeren Menge von Zucker ermöglicht, da das Diphosphat zwar zerfällt, aber stets regeneriert wird.

Daß die gärungssteigernde Wirkung des Zymophosphats spezifisch ist, ergibt sich daraus, daß sehr kleine Zusätze (m/400) noch deutliche Effekte dort äußern, wo anorganisches Phosphat der gleichen molekularen Konzentration praktisch wirkungslos ist (Tabellen IIIa, b und c). Hexose-di-phosphorsaures Magnesium ist in m/400 Konzentration durchschnittlich auch noch wirksamer als anorganisches Phosphat in 2 m/40 Konzentration (Tabelle V). 2 m/4 anorganisches Phosphat, d. h. eine Menge, die bei kompletter Phosphorylierung des vorhandenen Zuckers benötigt würde, wirkte ausgesprochen und ausnahmslos hemmend (Tabellen IIa und b, IIIa, b und c, IV). Das steht in Übereinstimmung mit den in der Literatur mitgeteilten Erfahrungen, daß Phosphate keineswegs durchgehends die Gärung stimulieren.

Die Tatsache, daß fertiges Hexose-di-phosphat sehr viel schlechter vergoren wird als nicht phosphorylierter Zucker, erscheint zunächst auffallend. Vom Versuch einer Deutung wollen wir so lange Abstand nehmen, bis die Frage genauer geprüft ist, ob etwa an den außerordentlich komplizierten Vorgängen Aktivatoren beteiligt sind, die

außer dem Hexose-di-phosphat aus Zucker hervorgehen. Dafür sprechen vielleicht die Versuche zur Aktivierung der Vergärung von Hexose-di-phosphat durch kleine Mengen von freier Fructose in m/40 und m/400 Konzentration, die deutlich einen positiven Ausschlag ergeben haben (Tabelle IV).

Zunächst hätte man erwarten sollen, daß die Vergärung von Hexose-di-phosphat im Vergleich mit nicht phosphorylierten Zuckern auch deshalb schneller vonstatten gehe, weil ja den tätigen Agenzien die Arbeit der Phosphorylierung bereits abgenommen ist. Allein die Vergärung erfolgt langsamer, und deshalb kann sie auch nicht durch

Tabelle Ia.

Temperatur 21°. Saft + 10 Proz. Cofermentzusatz.
ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stunden	1 m/4 hexose-diphosphorsaures Magnesium	2 m/4 Glucose + 2 m/4 Kaliumphosphatgemisch von $p_H = 7,2$	3 m/4 Fructose + 2 m/4 Kaliumphosphatgemisch von $p_H = 7,2$	4 Selbstgärung
5	0	0	0	0
16	0	0	27,0	0
17$^1/_2$	0,1	0,1	29,0	0
18	0,1	0,2	29,4	0
19	0,2	0,3	30,0	0
22	1,0	6,0	32,0	0
24	1,7	7,3	32,6	0
39	10,4	10,8	35,0	0
45	11,7	12,5	36,7	0

Tabelle Ib.

Temperatur 32°. Saft + 10 Proz. Cofermentzusatz.
ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stunden	1 m/4 Magnesiumsalz	2 m/4 Glucose + 2 m/4 Phosphatgemisch	3 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch	4 Selbstgärung
1	Spuren	0	0	0
2	0,1	0	0	0
2$^1/_2$	0,1	0	0,2	0
2$^3/_4$	0,1	0	5,0	0
3	0,2	0	19,0	0
3$^3/_4$	0,4	3,0	26,0	0
4$^1/_2$	0,8	20,0	35,0	0
16	34,0	39,0	57,0	0
19	37,0	41,6	60,2	0
23	39,0	43,4	62,7	0
24	39,8	44,4	64,4	0
45	43,9	49,5	67,2	0
68	45,7	50,5	68,6	0

Tabelle IIa.
Temperatur 23°. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stunden	1 m/4 Magnesiumsalz	2 m/4 Glucose + 2 m/4 Phosphatgemisch	3 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch	4 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch + m/4 Magnesiumsalz	5 m/4 Fructose + m/4 Magnesiumsalz	6 m/4 Magnesiumsalz + 2 m/4 Phosphatgemisch	7 Selbstgärung
1	0	0	0	0	Spuren	0	0
$1^1/_4$	0	0	0	0	1,0	0	0
$1^1/_2$	0	0	0	0	1,4	0	0
2	0	0	0	0	3,8	0	0
$2^1/_2$	0	0	0	0	9,2	0	0
3	0	0	0	0	11,8	0	0
$4^1/_4$	0	0	0	4,8	16,9	0	0
$4^3/_4$	0	0	0	8,0	19,4	0	0
$5^3/_4$	0	0	0	20,0	24,0	0	0
$6^3/_4$	0	0	0	26,2	26,8	0	0
$7^1/_2$	0	0	0	27,8	28,0	0	0
$8^1/_2$	0	0	0	29,2	29,6	0	0
10	0	0	0	32,0	33,0	0	0
11	0	0	0	33,4	34,6	0	0
22	1,8	0	3,8	42,2	49,4	0	0
24	4,2	0	7,3	44,4	53,4	0	0
25	5,2	0	8,0	45,3	55,2	0	0

Tabelle IIb.
Temperatur 30°. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stunden	1 m/4 Magnesiumsalz	2 m/4 Glucose + 2 m/4 Phosphatgemisch	3 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch	4 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch + m/4 Magnesiumsalz	5 m/4 Fructose + m/4 Magnesiumsalz	6 m/4 Magnesiumsalz + 2 m/4 Phosphatgemisch	7 Selbstgärung
1	0	0	0	0	Spuren	0	0
$1^1/_4$	0	0	0	0	1,0	0	0
$1^1/_2$	0	0	0	0	3,0	0	0
2	0	0	0	0	9,6	0	0
$2^1/_2$	0	0	0	0,5	19,0	0	0
3	0	0	0	0,7	22,8	0	0
$4^1/_4$	0,1	0	0	3,2	32,4	0	0
$4^3/_4$	0,1	0	0	4,3	34,0	0	0
$5^3/_4$	0,2	0	0	7,8	39,2	0	0
$6^3/_4$	0,3	0	0	12,4	42,4	0	0
$7^1/_2$	0,5	0	0	16,4	44,7	0	0
$8^1/_2$	1,0	0	0	19,4	45,8	0	0
10	4,0	0	0	26,6	50,4	0	0
11	6,2	0	0	28,0	52,2	0	0
22	20,4	0	13,8	45,5	78,3	1,8	0
24	22,4	0	14,3	49,0	84,2	2,8	0
25	24,2	0	14,8	50,8	85,6	4,2	0

Tabelle IIIa. Temperatur 23,5°. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stdn.	1 Selbstgärung	2 2 m/4 Phosphatgemisch	3 2 m/400 Phosphatgemisch	4 m/400 Magnesiumsalz	5 m/4 Fructose	6 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch	7 m/4 Fructose + 2 m/400 Phosphatgemisch	8 m/4 Fructose + m/400 Magnesiumsalz	9 m/4 Glucose	10 m/4 Glucose + 2 m/4 Phosphatgemisch	11 m/4 Glucose 2 m/400 Phosphatgemisch	12 m/4 Glucose + m/400 Magnesiumsalz
1	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0
$1^1/_2$	0	0	0	0	0,4	0	0	2,3	0	0	0	0,6
$1^3/_4$	0	0	0	0	0,4	0	0,1	4,7	0,1	0	0,1	2,0
$2^1/_4$	0	0	0	0	4,8	0	3,8	11,0	2,4	0	4,0	8,4
$2^1/_2$	0	0	0	0	9,0	0	8,6	13,0	5,4	0	5,6	9,6
$2^3/_4$	0	0	0	0	12,2	0	13,0	13,8	9,3	0	9,9	10,6
3	0	0	0	0	14,0	0	14,5	14,4	9,9	0	10,6	13,3
5	0	0	0	0	19,9	0	19,8	18,7	13,4	0	15,0	15,7
7	0	0	0	0	24,5	0	24,5	23,5	15,6	0	18,0	19,5
22	0	0	0	0	45,2	20,4	44,2	45,6	30,4	0	33,4	34,0
$24^1/_2$	0	0	0	0	49,4	21,8	49,0	49,2	32,0	0	36,0	36,4
$28^1/_2$	0	0	0	0	53,2	22,8	53,4	53,4	34,0	0,3	37,6	39,0
31						23,0			34,4	0,4		
32						23,2			34,6	0,5		
52						24,2			35,9	1,8		
73						25,0			37,6	3,0		
94						26,6			39,2	3,6		

Tabelle IIIb. Temperatur 23,5°. Wiederholung der Versuche von Tabelle IIIa mit anderem Saft. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stdn.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0	Spuren
$1^1/_2$	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0,1
3	0	0	0	0	0,15	0	0,1	12,4	0,8	0	0,8	8,6
$4^1/_2$	0	0	0	0	9,2	0	10,0	16,4	7,2	0	7,1	11,0
6	0	0	0	0	16,4	0	16,6	20,2	12,1	0	13,1	13,4
27	0	0	0	0	61,8	0	65,4	62,0	36,0	0	40,2	46,6
48	0	0	0	0	77,0	0	80,0	85,2	63,2	0	67,6	75,0
56						1,2				0		
59						2,0				0		
72						4,4				0		
76						11,8				0		

Tabelle III c.

Temperatur 23,5°. Saft + 10 Proz. Coferment. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stunden	1 Selbstgärung	2 2 m/4 Phosphatgemisch	3 2 m/400 Phosphatgemisch	4 m/400 Magnesiumsalz	5 m/4 Fructose	6 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch	7 m/4 Fructose + 2 m/400 Phosphatgemisch	8 m/4 Fructose + m/400 Magnesiumsalz	9 m/4 Glucose	10 m/4 Glucose + 2 m/4 Phosphatgemisch	11 m/4 Glucose + 2 m/400 Phosphatgemisch	12 m/4 Glucose + m/400 Magnesiumsalz
1	0	0	0	0	0	0	0	Spuren	0	0	0	Spuren
$1^1/_2$	0	0	0	0	0	0	0	0,15	0	0	0	0,25
2	0	0	0	0	0	0	0	1,8	Spuren	0	0,1	1,6
$2^1/_2$	0	0	0	0	0	0	0	11,2	0,2	0	0,5	8,6
3	0	0	0	0	Spuren	0	Spuren	12,8	0,8	0	1,3	11,4
$3^1/_2$	0	0	0	0	0,1	0	0,1	14,5	2,6	0	3,1	12,6
4	0	0	0	0	0,15	0	0,15	15,8	5,4	0	5,8	14,2
5	0	0	0	0	1,3	0	3,4	18,2	10,1	0	10,4	15,9
17	0	0	0	0	34,2	0	34,0	46,7	26,8	0	27,6	37,2
21	0	0	0	0	44,2	0	45,8	56,5	34,0	0	35,8	45,3
49	0	0	0	0		0				0		
64						4,0				0		
69						5,2				0		

Tabelle IV.

Temperatur 24°. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stunden	1 m/4 Magnesiumsalz	2 m/4 Magnesiumsalz + m/40 Fructose	3 m/4 Magnesiumsalz + m/400 Fructose	4 m/4 Magnesiumsalz + m/4 Fructose	5 m/4 Fructose	6 m/4 Fructose + m/40 Magnesiumsalz	7 m/4 Fructose + m/400 Magnesiumsalz	8 m/40 Magnesiumsalz	9 m/4 Fructose + 2 m/4 Phosphatgemisch	10 m/4 Fructose + 2 m/40 Phosphatgemisch
1	0	0	0	1,2	0	0,7	0,1	0	0	0
$1^1/_2$	0	0	Spuren	6,6	0	3,0	0,1	0	0	0
$2^1/_4$	0	0	0,1	12,8	0	8,4	2,1	0	0	0
$3^1/_2$	0	Spuren	0,1	18,0	0	14,3	13,2	0	0	0
5	0	0,05	0,1	24,2	0,25	23,4	19,1	0	0	0,4
$6^1/_4$	0	0,2	0,3	29,4	2,0	31,0	23,2	Spuren	0	10,6
$21^1/_2$	6,0	12,2	10,5	59,0	44,6	57,4	60,4	0,4	0	58,6
24	10,2	16,2	13,0	66,0	52,2	62,5	67,0	0,5	0	64,0
26	12,3	18,8	14,8	70,0	57,0	64,6	70,0	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Tabelle V. Temperatur 24°. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stdn.	1 m/4 Glucose	2 m/4 Fructose	3 m/8 Saccharose	4 m/8 Fructose + m/8 Glucose	5 m/4 Magnesiumsalz	6 m/4 Glucose + 2 m/40 Phosphatgemisch	7 m/4 Fructose + 2 m/40 Phosphatgemisch	8 m/8 Saccharose + 2 m/40 Phosphatgemisch	9 m/8 Glucose + m/8 Fructose + 2 m/40 Phosphatgemisch	10 m/4 Magnesiumsalz + 2 m/40 Phosphatgemisch	11 m/4 Glucose + m/400 Magnesiumsalz	12 m/4 Fructose + m/400 Magnesiumsalz	13 m/8 Saccharose + m/400 Magnesiumsalz	14 m/8 Glucose + m/8 Fructose + m/400 Magnesiumsalz
1 1/2	Spuren	0	Spuren	Spuren	0	0	0	Spuren	0,15	0	0,4	0,3	0,4	3,5
2	0,3	0	0,4	0,7	0	0,2	0	1,8	2,0	0	2,5	1,2	4,2	6,8
2 1/2	1,0	0	3,0	3,0	0	0,8	0	7,6	8,0	0	6,2	3,8	9,3	11,4
3 1/2	9,8	0	12,8	11,8	0	10,4	0	24,0	25,0	0	12,5	13,2	14,0	16,0
4 1/2	15,4	0	17,6	17,8	0,1	22,8	0	30,8	32,6	0	18,2	19,0	18,7	20,6
6	18,4	0	20,8	21,2	0,1	26,0	0	34,2	36,6	0,1	21,8	22,4	22,2	24,0
7	21,8	0	24,0	25,0	0,2	29,6	4,2	37,3	41,1	0,2	24,5	25,3	24,8	29,0
22 1/2	61,3	44,8	65,1	65,4	13,3	63,2	59,0	66,3	67,4	14,2	65,0	66,3	61,2	69,4

Tabelle VI. Temperatur 23°. ccm CO_2 aus 10 ccm Gärgemisch.

Zeit nach Stdn.	1 m/4 Glucose	2 m/4 Fructose	3 m/8 Saccharose	4 m/8 Fructose + m/8 Glucose	5 m/4 Magnesiumsalz	6 m/8 Magnesiumsalz + m/8 Glucose	7 m/8 Magnesiumsalz + m/8 Fructose	8 m/8 Magnesiumsalz + m/16 Saccharose	9 m/8 Magnesiumsalz + m/16 Fructose + m/16 Glucose	10 m/80 Magnesiumsalz	11 Selbstgärung
1 1/4	0	0	0	0	0	0,5	0,3	0,3	0,1	0	0
2	0,1	0	1,0	1,0	0	4,0	2,0	2,0	1,8	0	0
2 3/4	1,2	0,4	8,2	7,6	0	7,2	4,8	4,6	4,7	0	0
3 1/4	4,7	2,5	12,8	12,4	0	9,4	6,8	6,4	6,8	0	0
4 1/2	11,4	12,5	16,6	15,4	0	13,0	9,8	9,2	9,8	0	0
5 1/2	14,8	16,2	19,2	17,3	0	15,5	12,6	11,5	12,3	0	0
6 1/2	18,6	20,2	22,6	20,6	0	18,6	15,6	14,0	14,7	0	0
8	21,3	23,5	26,0	23,2	Spuren	20,5	17,8	16,0	16,4	0	0
22	42,3	49,8	53,0	49,5	2,5	31,0	30,0	27,8	27,2	0	0

Zugabe von Cozymase beschleunigt werden; denn deren Hauptaufgabe besteht offenbar in der raschen Herbeiführung des *Eulereffektes*, der Veresterung.

Die durch die beigefügten Tabellen gekennzeichneten Versuche sind in der Art ausgeführt, daß die Zucker und sonstigen Zusätze in fester Form im Mazerationssaft — aus Patzenhofer Trockenunterhefe dargestellt — gelöst wurden. Zur Bereitung des Saftes für die Versuchsreihen IIIb bis VII wurde Trockenhefe gleicher Fertigung benutzt. In den Versuchen unter Zugabe von Coferment wurde dieses dem Safte vor dem Lösen der verschiedenen Agenzien zugesetzt, und zwar in Menge von 10 Proz. des Saftes. Die Wasserstoffionenkonzentration wurde überall auf $p_H = 6{,}0$ bis 6,2 eingestellt; vgl. S. 489. Als Antisepticum wurde stets 1 Proz. Toluol hinzugefügt. Je 10,0 ccm der Gärgemische wurden in ein Eudiometerrohr eingeführt; die gebildete Kohlensäure ist volumetrisch gemessen.

Autorenverzeichnis.

Abe, Yukujiro s. *Leon Asher.*

Alsterberg, Gustaf. Über Jodidanalyse und neue Einstellungsmethoden für Permanganat- und Hyposulfitlösungen. S. 1.

Aristowsky, M. W. Übergang der Phosphor und Calcium enthaltenden unlöslichen Verbindungen in lösliche und Absorption derselben im Magendarm-Apparat. S. 55.

Arnd, O. Über den Einfluß von Acetonitril auf die elektroendosmotische Flüssigkeitsbewegung. S. 414.

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 85. Der Einfluß der inneren Sekretion auf das phagocytäre Vermögen der Leucocyten, geprüft mit der Methode von *Fenn.* Von *Yukujiro Abe.* S. 295.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 86. Fortgesetzte Prüfung der chemischen Regulation des Herzschlages durch die Leber. Von *Willy Richardet.* S. 317.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 87. Fortgesetzte Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Schilddrüse, Thymus und Knochenmark. Von *Hideo Nakao.* S. 337.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 88. Fortgesetzte Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Thymus, Milz und Knochenmark. Von *Hideo Nakao.* S. 350.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 89. Fortgesetzte Untersuchungen über den Einfluß der Nierennerven auf die Zusammensetzung des Harns. Von *W. Kichikawa.* S. 362.

Augustson, Ann-Marie s. *Erik Hägglund.*

Beck, W. s. *H. Freundlich.*

Bickel, A. Weitere Untersuchungen über den Stoffwechsel bei der Avitaminose. S. 251.

Chraszcz, T. und *C. Goralówna.* Milchdiastase und ihre Eigenschaften. S. 172.

Collaud, A. Über den Einfluß der Erythrocytenladungen auf deren Sedimentierungsgeschwindigkeit. S. 431.

Demuth, Fritz. Über Phosphatstoffwechsel. II. S. 162.

Farkas, G. und *H. Tangl.* Die Wirkung des Cholins auf Kaulquappen. S. 95.

Freundlich, H. und *W. Beck.* Die Sensibilisierung durch Albumine und Pseudoglobuline aus normalem und Immunseren. S. 190.

Glimm, E. und *F. Wadehn.* Beitrag zur Kenntnis des Placentahormons. Vorläufige Mitteilung. S. 155.

Goralówna, C. s. *T. Chrząszcz.*

Gorr, Günther s. *Carl Neuberg.*

Hafner, E. A. Über die spezifische Rotationsdispersion der Serumeiweißfraktionen. S. 424.

Hägglund, Erik u. *Ann-Marie Augustson.* Über die Abhängigkeit der alkoholischen Gärung von der Wasserstoffionenkonzentration. II. S. 234.

Helzer, J. Untersuchungen über die Regulierung der Wasserstoffionenkonzentration im Organismus duch die Darmwand. S. 116.

Hilpert, Siegfried. Über bakterizide Eigenschaften in der Chinongruppe. S. 71.

— Über eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln: Chlorierte hochmolekulare Sulfosäuren. S. 89.

Iwatsuru, Ryuzo. Über Polysaccharidspaltung durch Hefe. S. 409.

Kaufmann, E. Zur Mikroblutzuckerbestimmung nach *Hagedorn* und *Jensen.* S. 207.

Kichikawa, W. s. *Leon Asher.*

Kobel, M. s. *C. Neuberg.*

Lebedew, A. Bemerkung zur Arbeit von *Kluyver, Donker* und *Visser 't Hooft*: „Über die Bildung von Acetylmethylcarbinol und 2, 3-Butylenglykol". S. 407.

Leites, S. Über die Beziehungen zwischen dem vegetativen Nervensystem und den Elektrolyten K, Ca des Serums. S. 47.

Liepatoff, S. Zur Kinetik der Quellung und Entquellung der Gele. S. 220.

Melli, G. s. *P. Rona.*

Meyer, Kurt. Versuche über die anaphylaktogene Wirkung kristalloider Substanzen. II. Mitteilung: Über Ursolanaphylaxie. S. 202.

Nakao, Hideo s. *Leon Asher.*

Neuberg, Carl und *Günther Gorr.* Überführung des Methylglyoxals in Brenztraubensäure. S. 442.

— — Über die gekreuzte Dismutation zwischen Aldehyd und Keton. S. 444.

— — Über den Mechanismus der Milchsäurebildung bei Bakterien. II. S. 482.

Neuberg, C. und *M. Kobel.* Vergleichende Versuche über die zellfreie Vergärung von Hexose-diphosphorsäure, Glucose, Fructose, Saccharose sowie Invertzucker. S. 488.

Neuberg, Carl und *Carl Oppenheimer.* Zur Nomenklatur der Gärungsfermente und Oxydasen. S. 450.

Neuberg, Carl und *Fritz Windisch.* Über die Essiggärung und die chemischen Leistungen der Essigbakterien. S. 454.

Oppenheimer, Carl s. *Carl Neuberg.*

Port, Jaan. Über die Wirkung der Neutralsalze auf das Durchdringen der H'- und OH'-Ionen durch das Pflanzenplasma. I. S. 105.

Richardet, Willy s. *Leon Asher.*

Rona, P. und *G. Melli.* Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. III. S. 242.

Rywosch, S. Untersuchungen über die Quellungsvorgänge bei hygroskopischen Bewegungen. S. 24.

Schaudt, Gustav. Die Wasserstoffionenkonzentration der menschlichen Fäzes. S. 136.

Schumacher, Josef. Über das Verhalten einiger basischer Farbstoffe zu Lipoiden. S. 214.

— Über die Bedeutung des Calciums bei der Salvarsanwirkung. S. 210.

Tangl, H. s. *G. Farkas.*

Wadehn, F. s. *E. Glimm.*

Wallerstein, Albert. Untersuchungen über die Verdaulichkeit von Lichenin. S. 157.

Warburg, Otto. Versuche über die Assimilation der Kohlensäure. S. 386.

Windisch, Fritz s. *Carl Neuberg.*



